Plan

B : Les microfilaments fins d'actine

Définition

Ultrastructure et architecture moléculaire

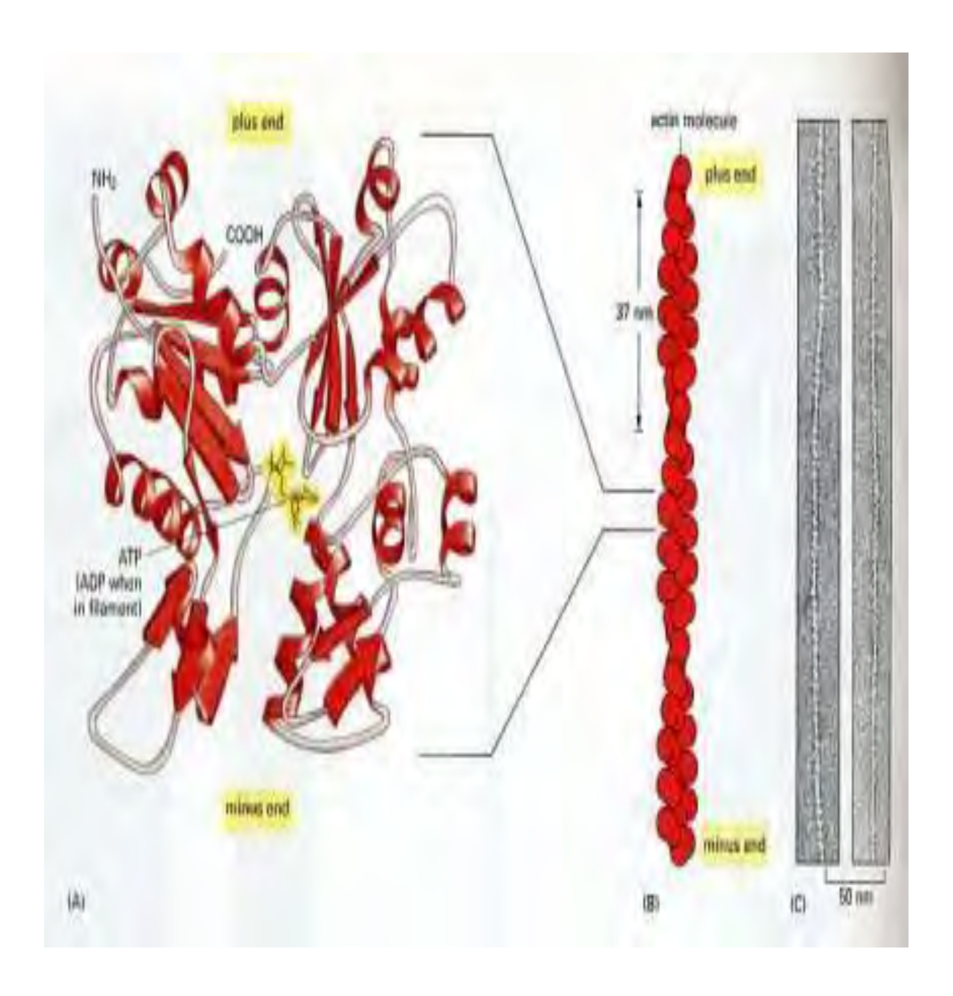
Variétés et distribution

biogénèse

Propriétés

Protéines associées

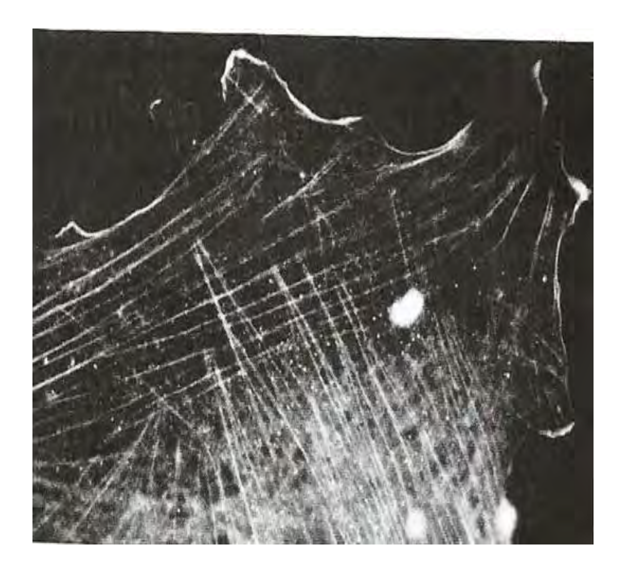
Définition



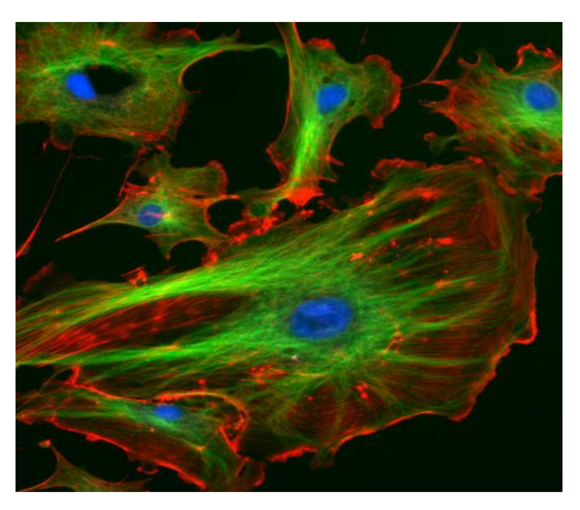
Les microfilaments d'actine représentent le constituant essentiel du cytosquelette.

Se sont des structures Filamenteuses. Ils permettent à la cellule d'effectuer des mouvements coordonnés et dirigés avec l'aide des protéines motrices

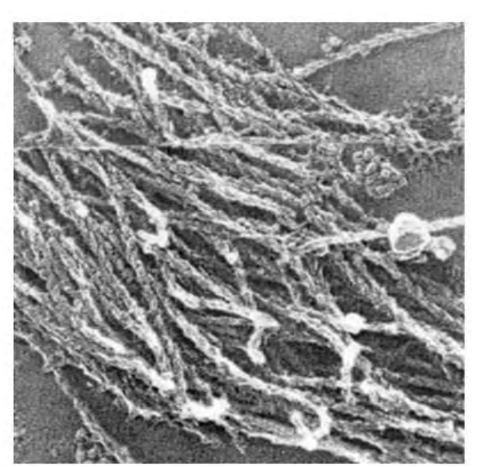
Techniques d'étude



Microfilaments d'actine des adhésions focales après coupe mince

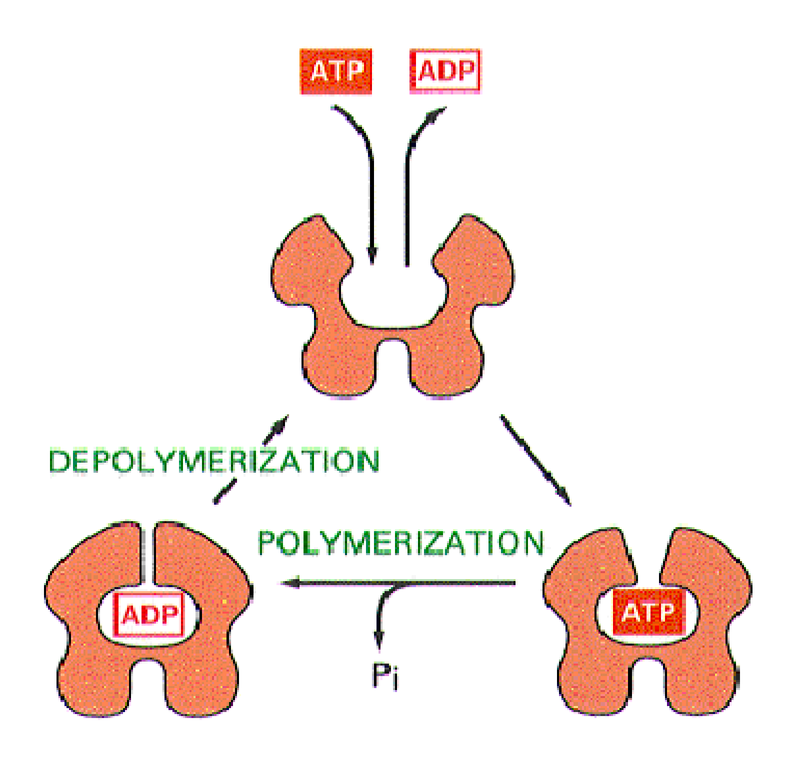


Filaments d'actine (rouge) observés par la technique d'immunofluorescence



Les filaments d'actine observés au MET après coloration négative

Caractéristiques du monomère d'actine G



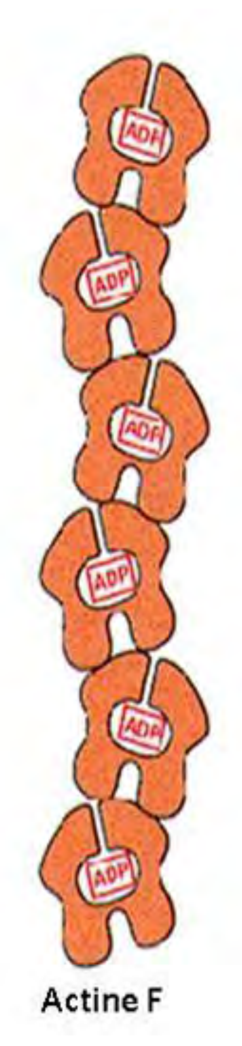
- L'actine G (protéine globulaire) est un monomère de forme bivalve délimitant une crevace au centre dans laquelle se fixe l'ATP ou l'ADP
- Chaque monomère possède des sites de

Architecture moléculaire

Après isolement par UCD – UGD et coloration négative , les MFF sont formés de l'alignement d'actine G en une hélice monocaténaire de 6 à 8 nm de diamètre

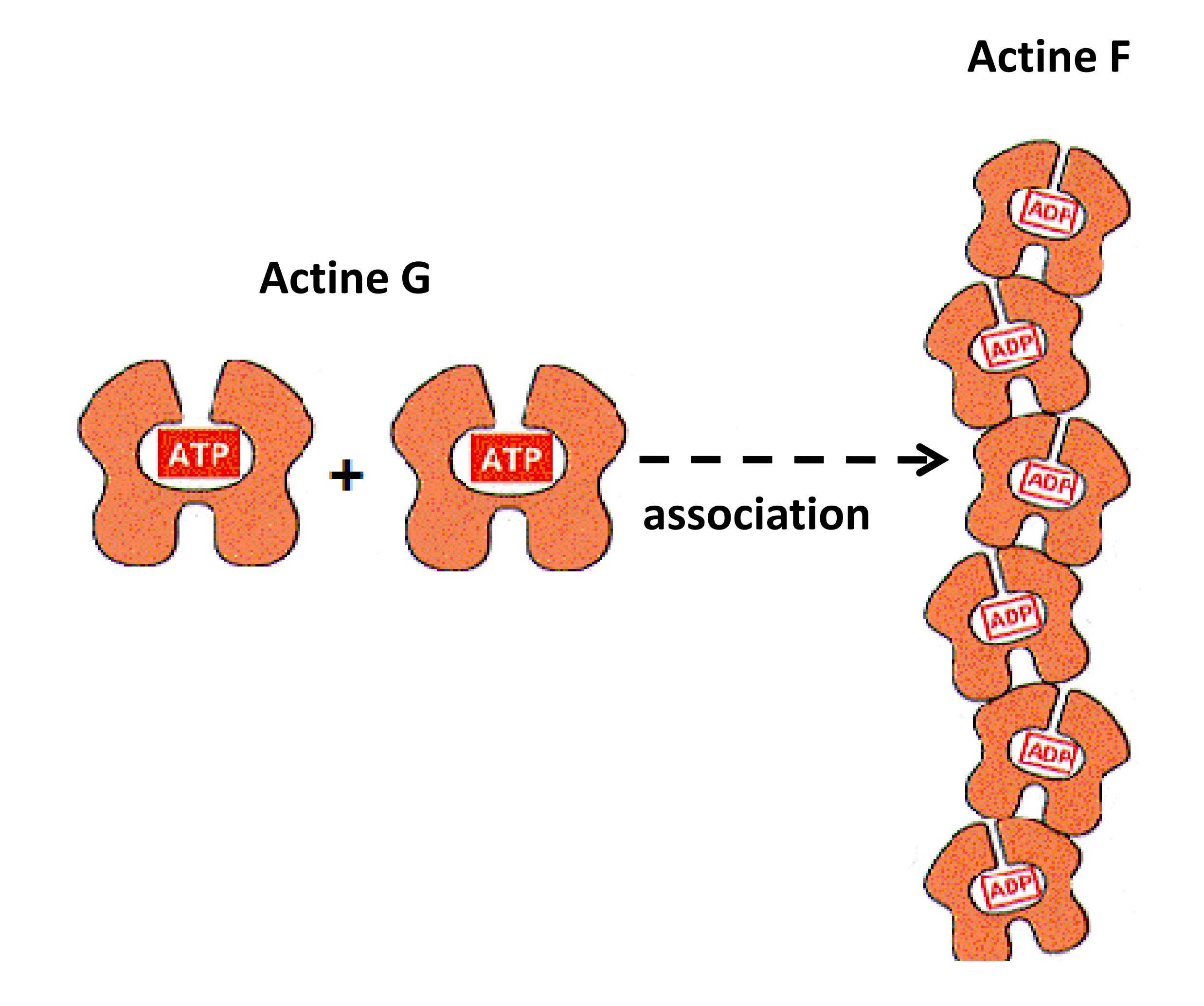
l'actine G est la protéine cellulaire la plus abondante







Association des monomères d'actine G pour la formation du filament F



Variétés et distribution de l'actine monomérique

Actine Gα

↓

Présente dans les cellules musculaires striés et cellules musculaires lisses

↓

Filaments stables

actine G β,γ

↓

cellules non musculaires

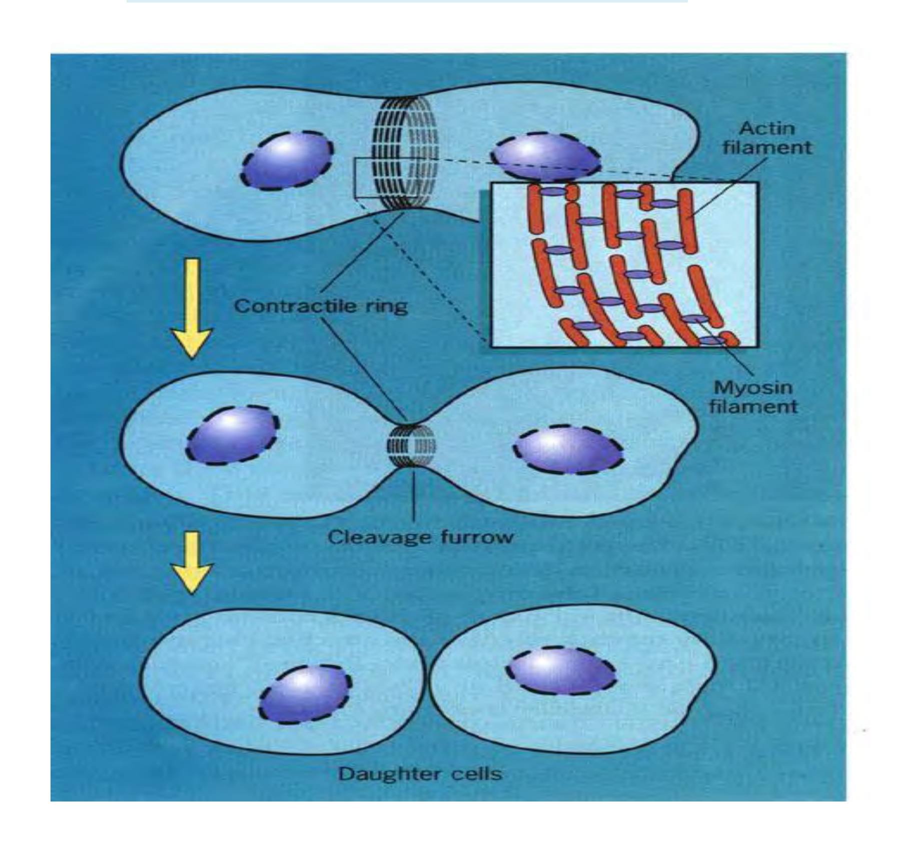
- **Cortex cellulaire**
- **Ceinture d'adhérence**
- **Axe des microvillosités des entérocytes**
- **Filopodes , lamellipodes**
- **Fibres de stress**
- **Anneau contractiles de la cytodiérèse**

↓

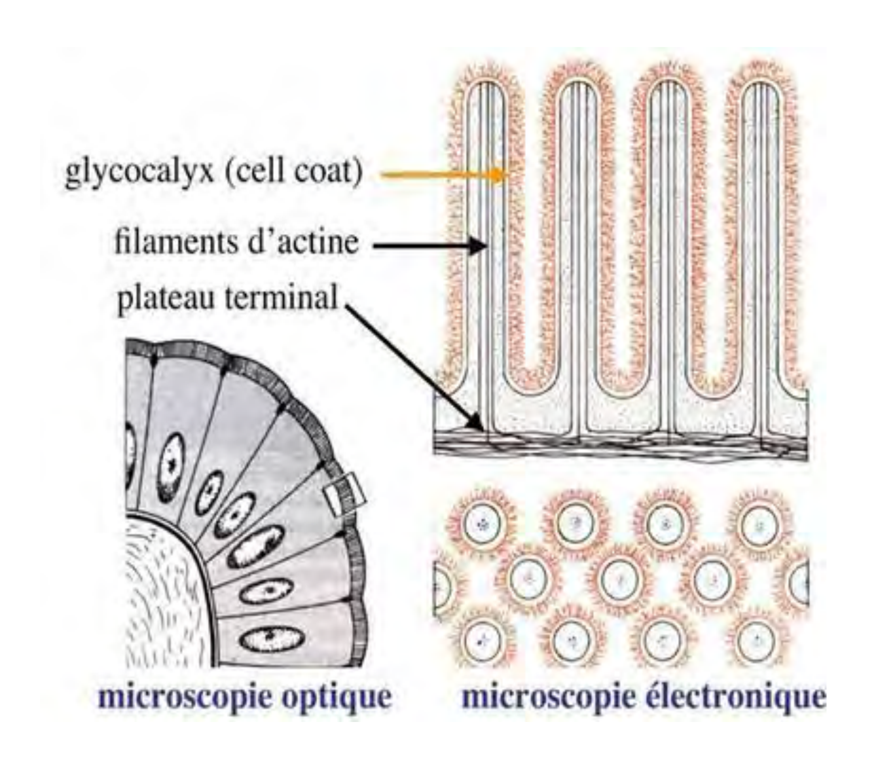
Filaments Instables (dynamiques)

Les microfilaments d’actine des cellules non musculaires

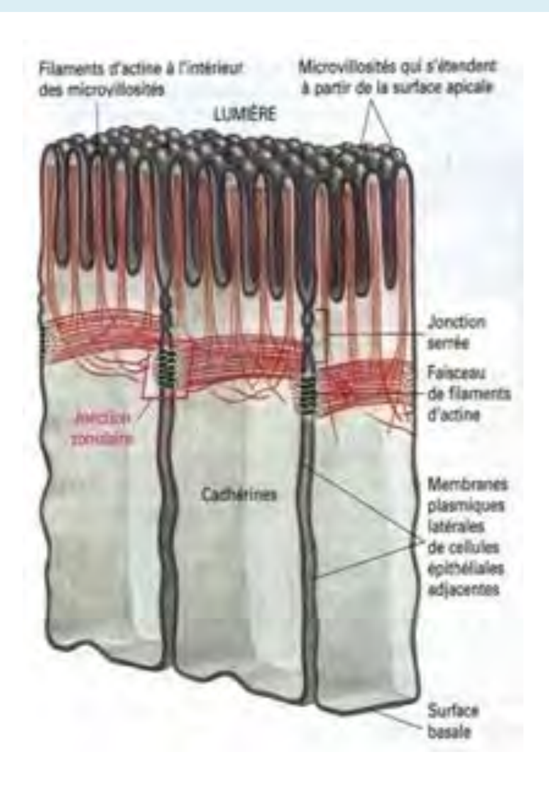
Les MF d'actine dans la cellule en fin de division



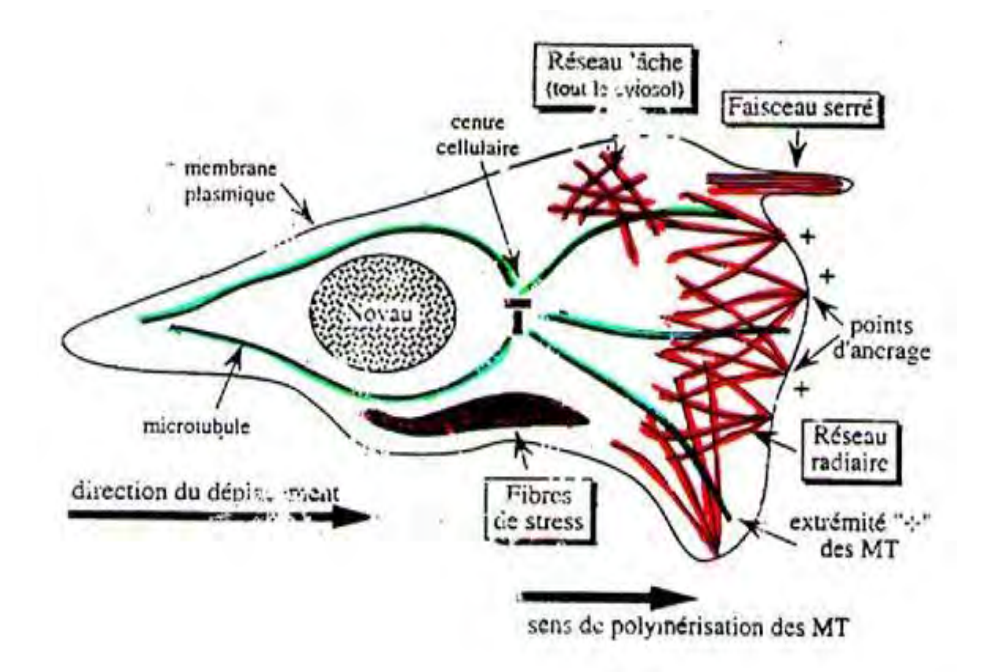
Disposition des faisceaux d'actine dans les microvillosités des cellules épithéliales



Disposition des MF d'actine dans le désmosome de ceinture des cellules épithéliales

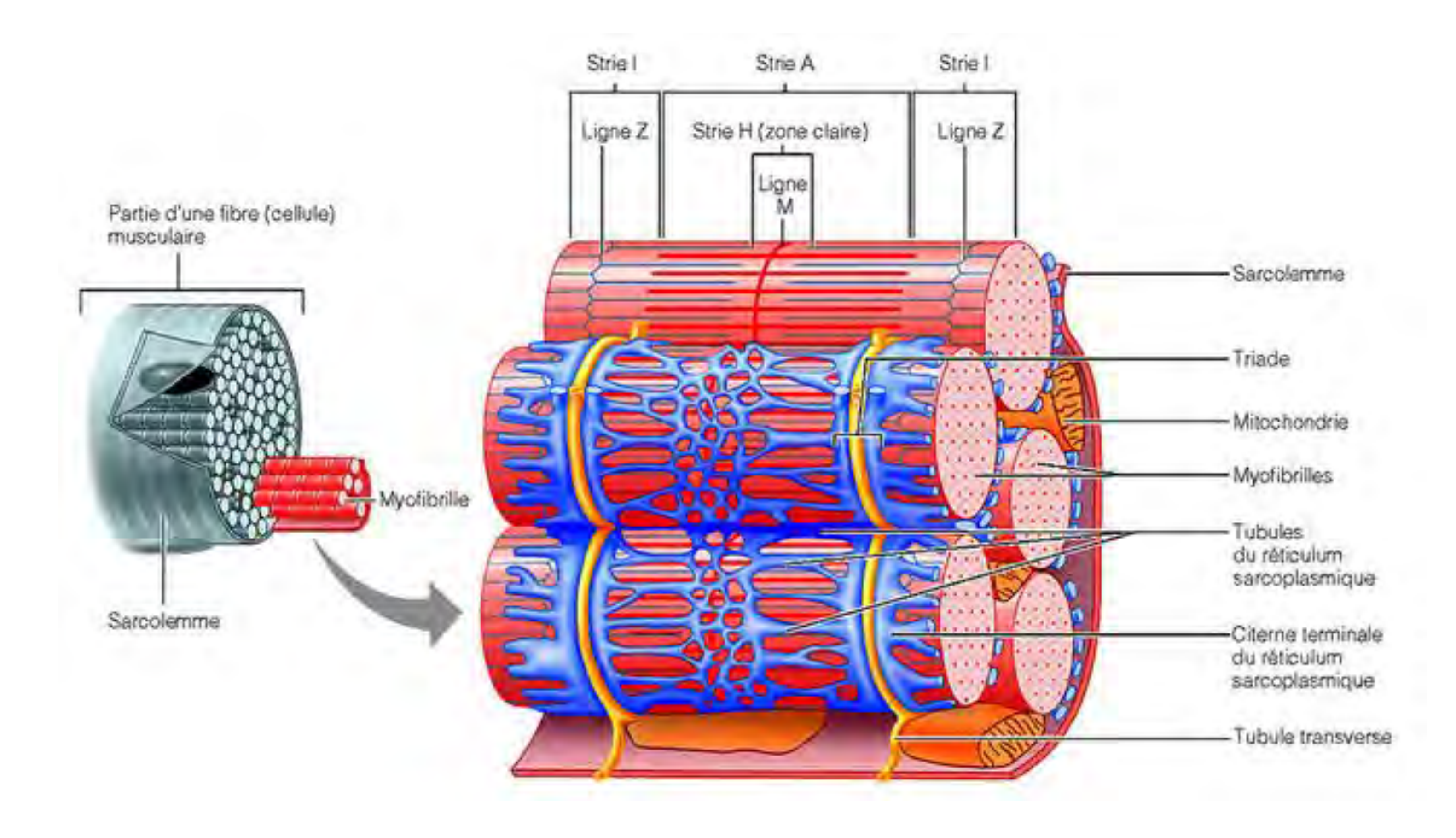


Dans un fibroblaste en déplacement sur un support de culture les MF d'actine sont sous membranaires (au niveau des filopodes, lamellipodes ….)



Les microfilaments d'actine des cellules musculaires

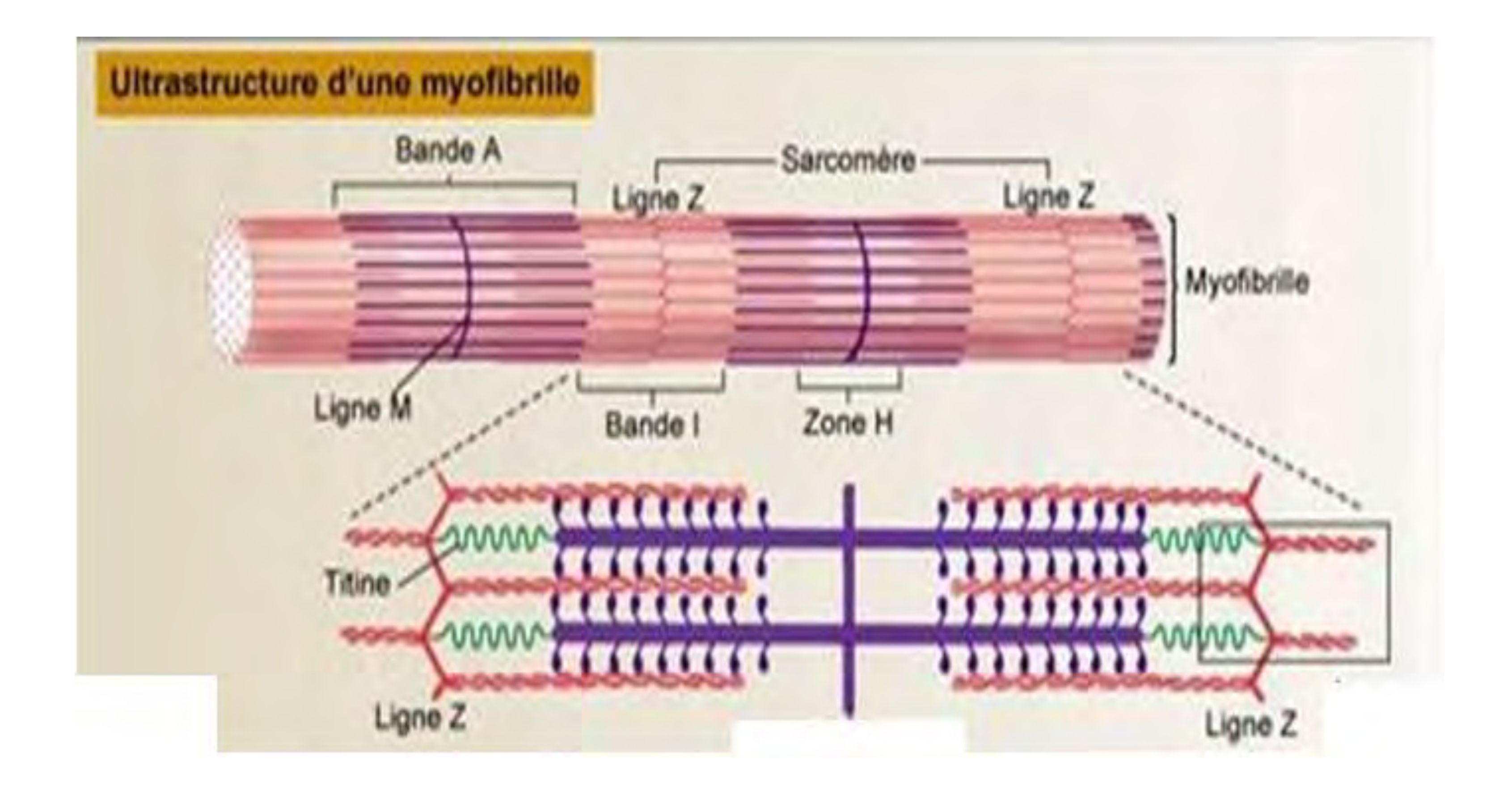
Aspect ultrastructural des myofibrilles



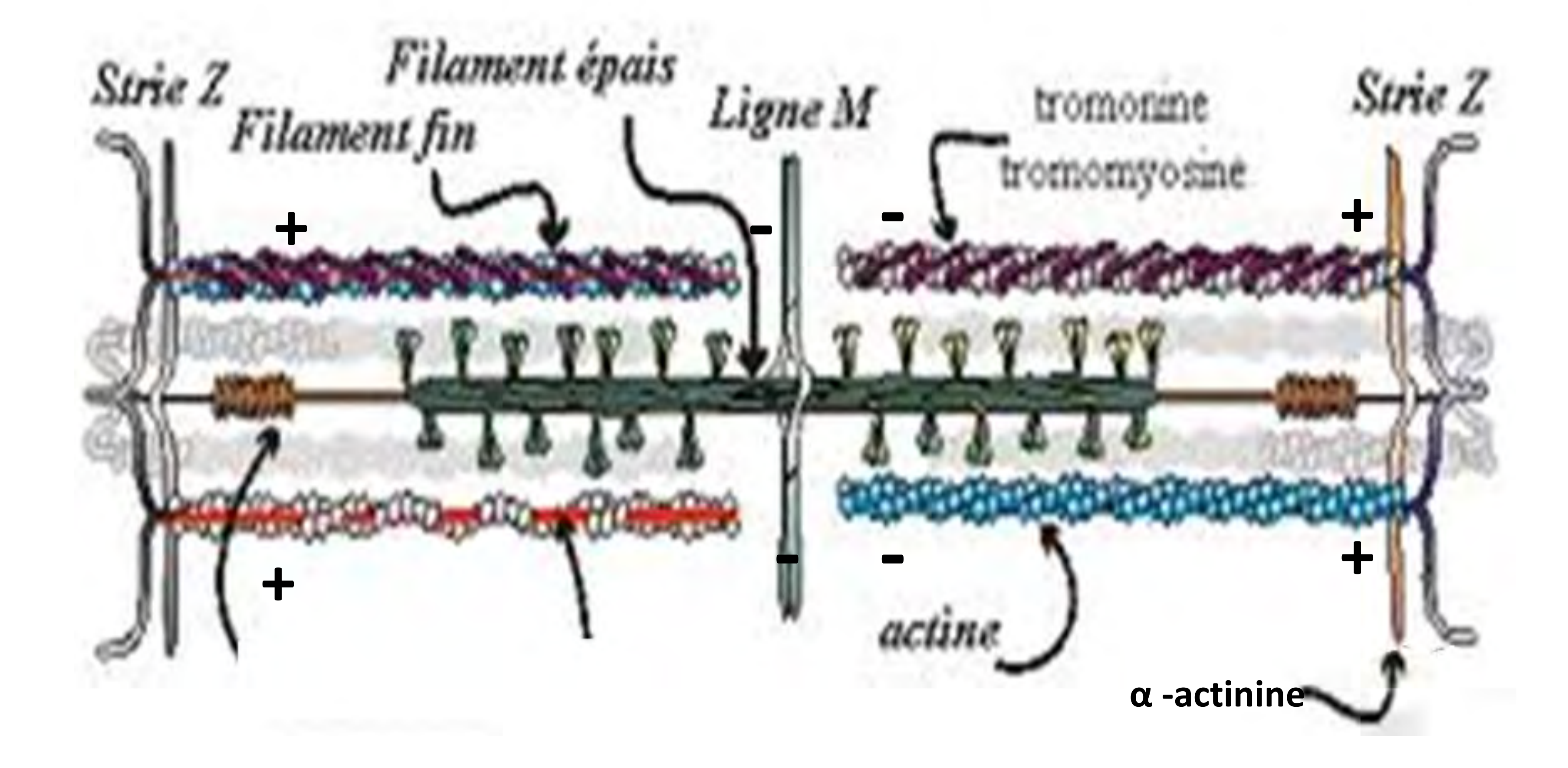
Le cytoplasme de la cellule musculaire est occupé par des myofibrilles

Les constituants moléculaires du sarcomère: sont hautement organisés

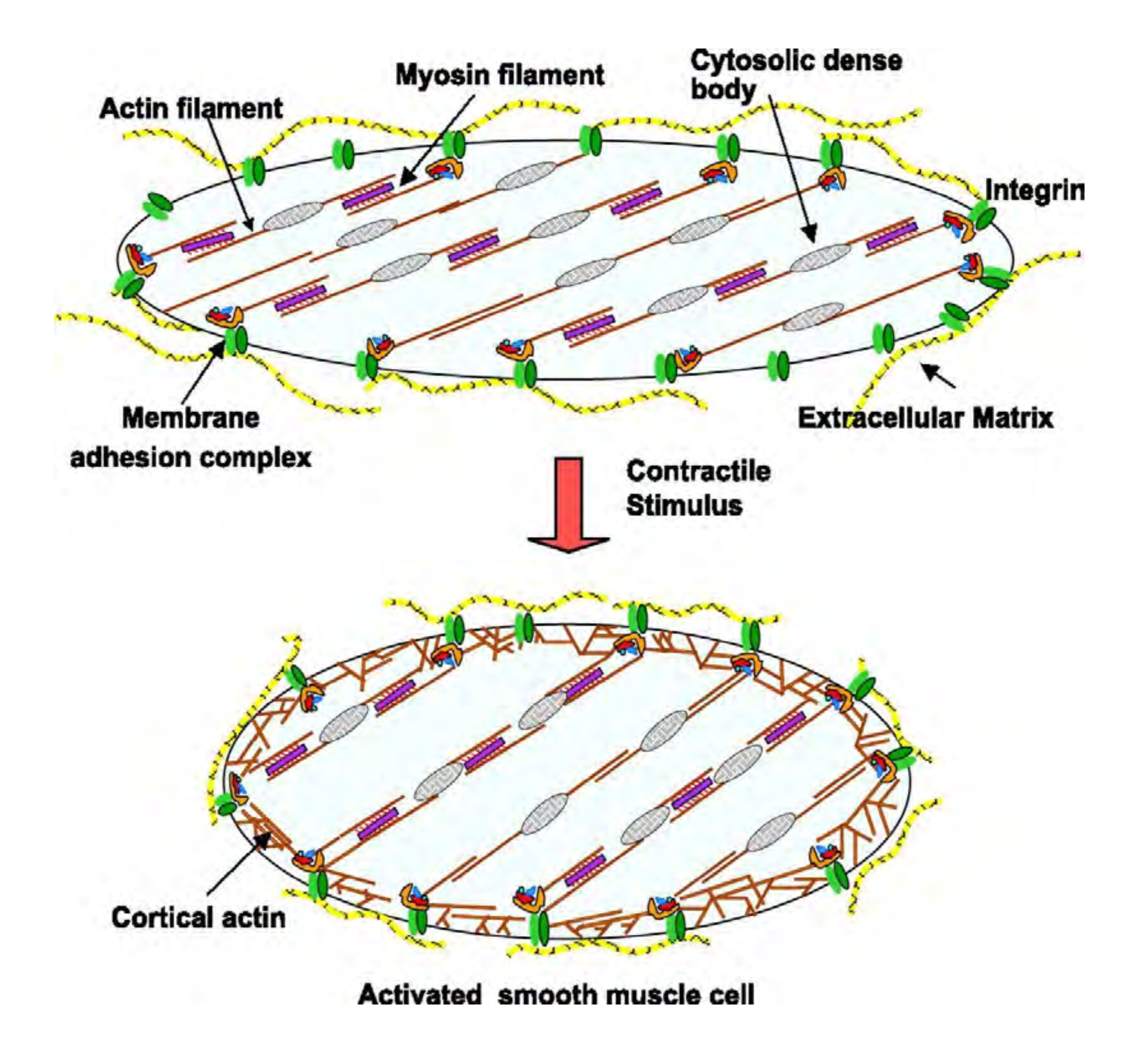
La myofibrille est une succession de sarcomères (unités contractiles)



Constituants du sarcomère



Répartition des myofilaments et leur interaction dans la cellule musculaire lisse (voir cours d'Histologie)



Biogénèse des microfilaments d'actine

Les Conditions de la biogénèse des MFF

Présence de :

- **Actine G**
- **ATP**
- **Monomère G-ATP**
- **Complexe d'amorce : ARP 2/3**

Etapes de biogénèse des MF d'actine

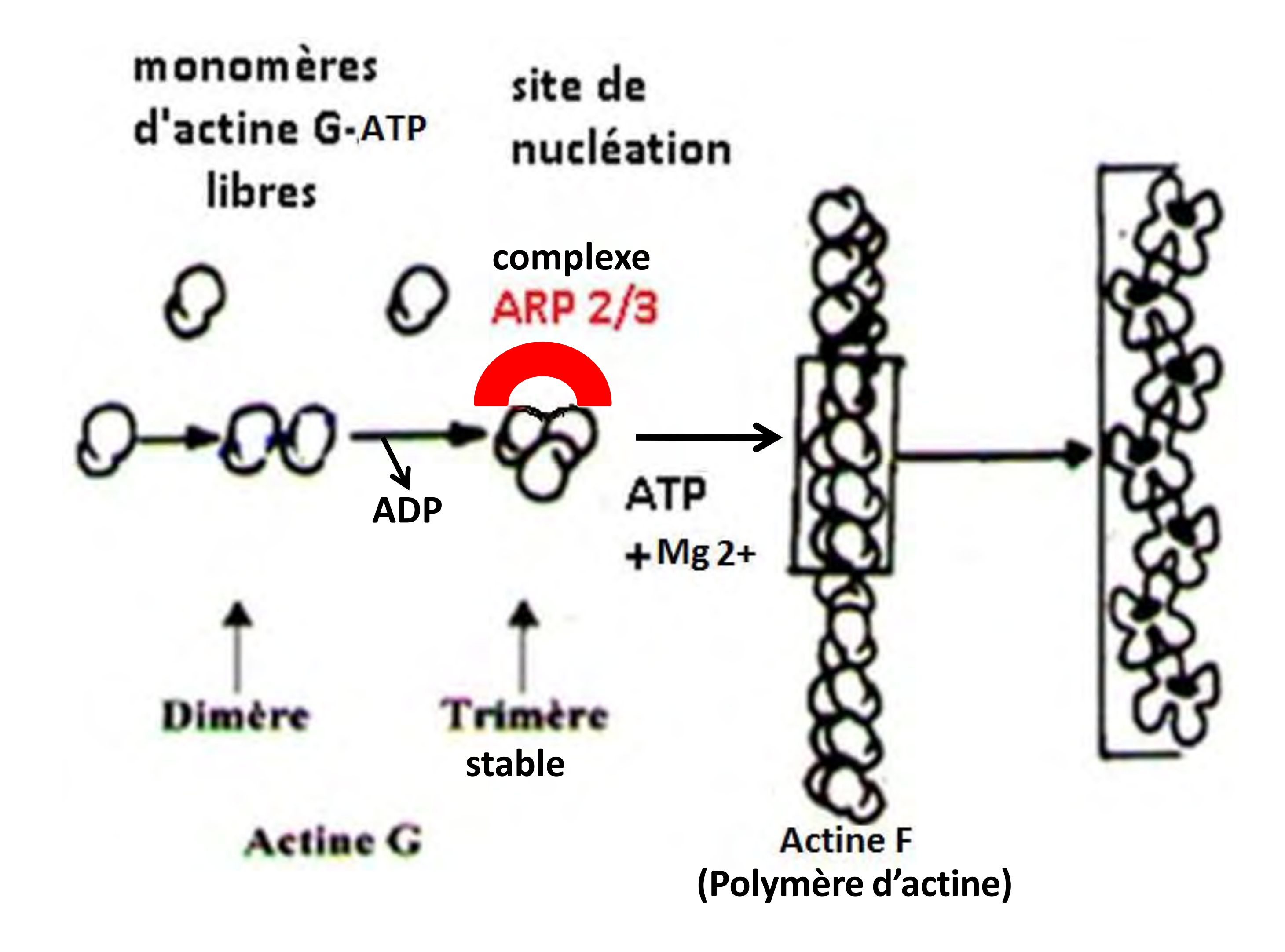
1 **nucléation: se produit sous la membrane plasmique et dans le hyaloplasme par installation d'un trimère d'actine G- ATP .**

2 **Elle est catalysée par par un complexe protéique l'ARP 2/3 qui stabilise le trimère à partir de l'extrémité (-) du MF**
L'ARP 2/3 est préalablement activé par une GTP ase

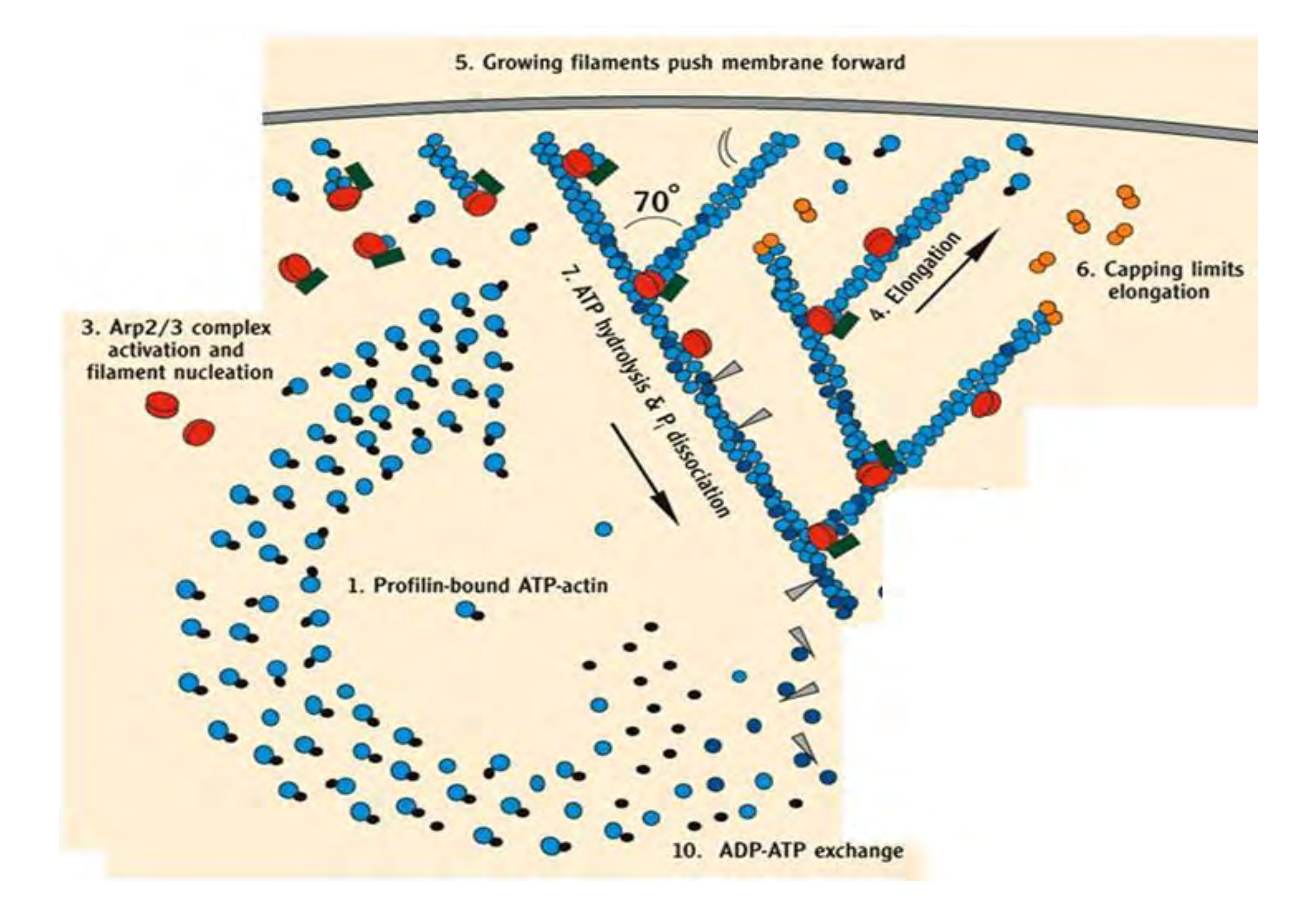
1 **Polymérisation : sur le trimère s'ajoutent des monomères d'actine G – ATP (du cytosol) ce qui permet son élongation rapide à l'extrémité (+) pour la formation d'actine F**

Biogénèse des microfilaments d'actine

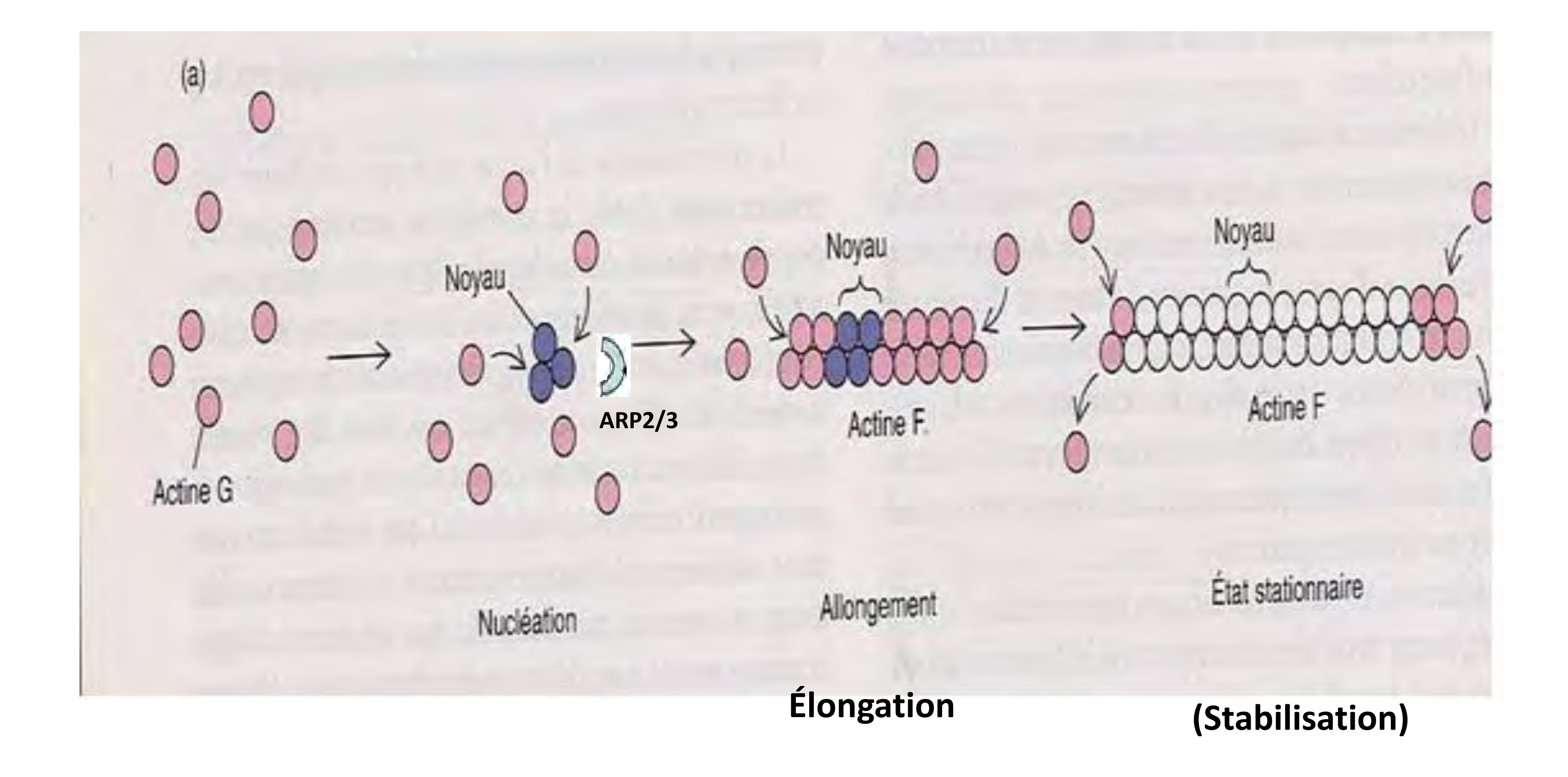
(Planche III, P 21)



La nucléation peut se faire sur un MFF préexistant



L'allongement : les monomères s'assemblent suivant une double hélice

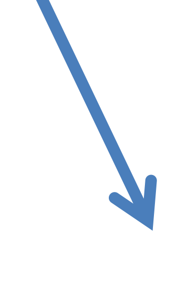


Propriétés des MFF d’actine

1- Polarité / orientation

2- Dynamique

3- Interaction avec des protéines intracellulaires



4 - Sensibilité aux drogues

Polarité

Dés sa formation le MFF d'actine présente deux extrémités :

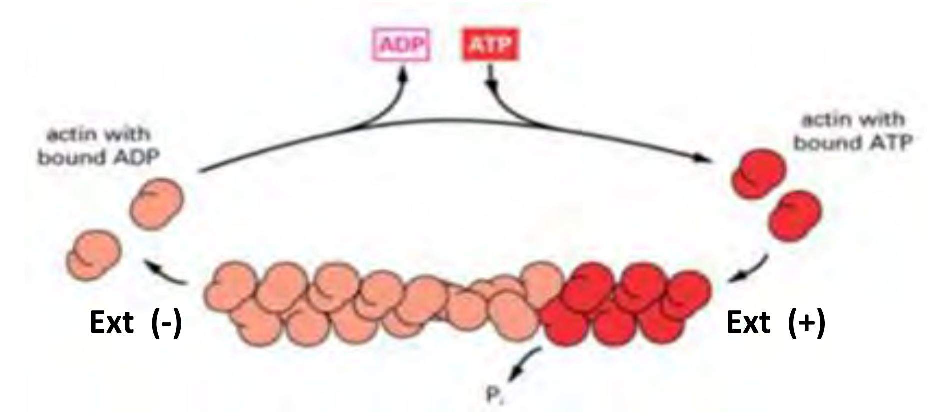


Extrémité (+) **Extrémité (-)**

Actine F

Dynamique

dépolymérisation (raccourcissement)



polymérisation (allongement)



de forme pointue

Filament d'actine

de forme barbue

microfilaments



Se polymérisent et se dépolymérisent aux 2 extrémités et continuellement

Extrémité +

dirigée vers la périphérie cellulaire

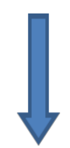


Polymérisation rapide

dépolymérisation lente

Extrémité (–)

dirigée vers le centre cellulaire

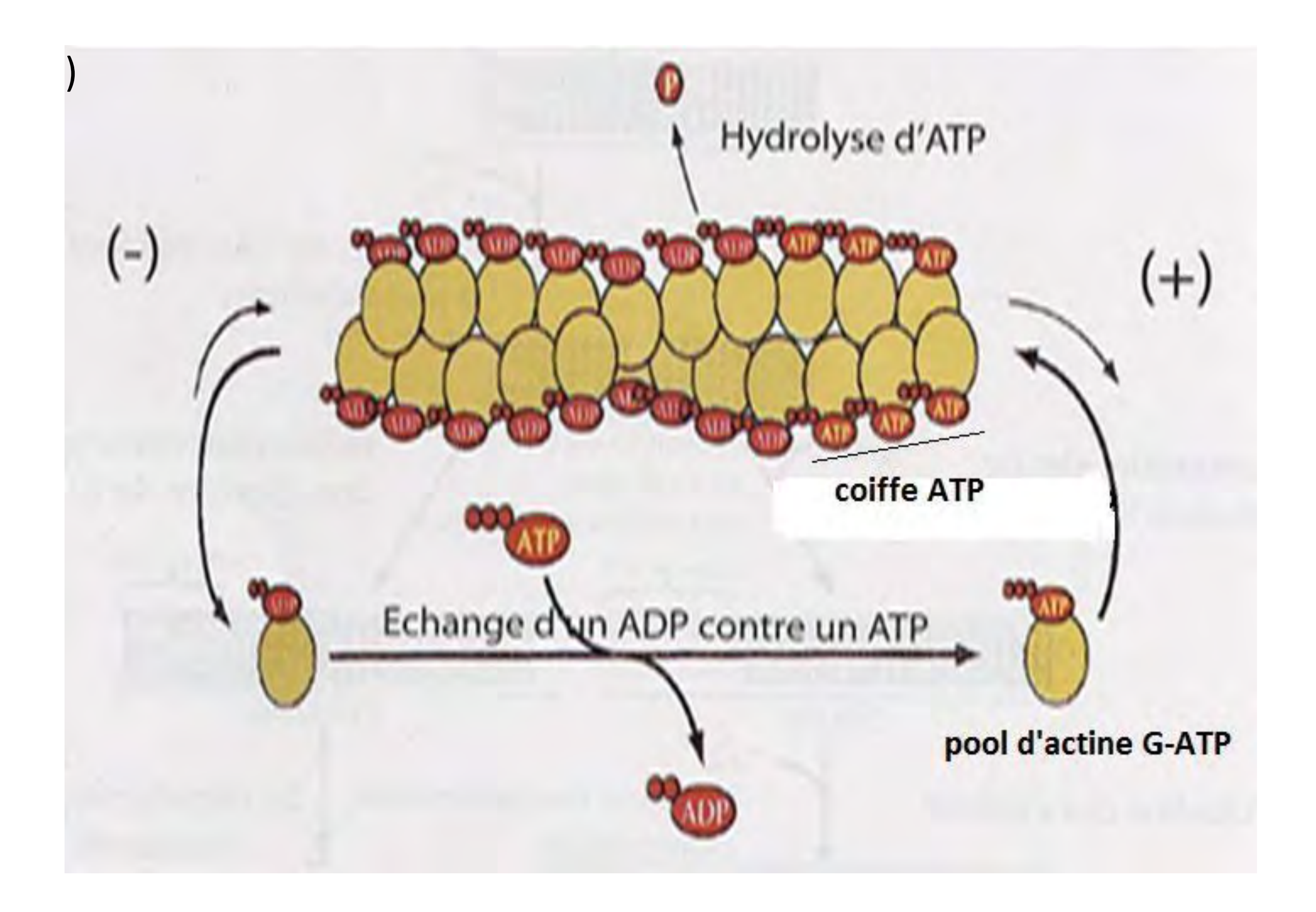


dépolymérisation rapide

polymérisation lente

Dynamique des microfilaments d'actine (Schémas 8 , P 58

L'alternance des phases de polymérisation et dépolymérisation de l'actine est nécessaire à l'activité des cellules non musculaires . Ces phénomènes ne se produisent pas dans les cellules musculaires

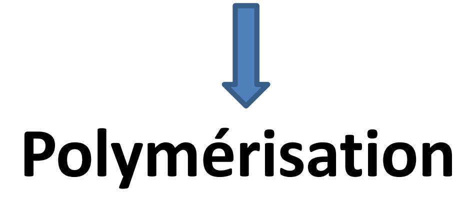


Facteurs contrôlant la polymérisation des MF d'actine dans les cellules non musculaires

- Un pool d 'actine G libre
- Une forte concentration en ATP et en Mg^{2+}

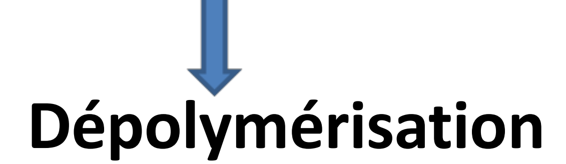
Conditions de la dynamique des MF d'actine

Echange d'ADP en ATP (interaction: actine G - ATP)



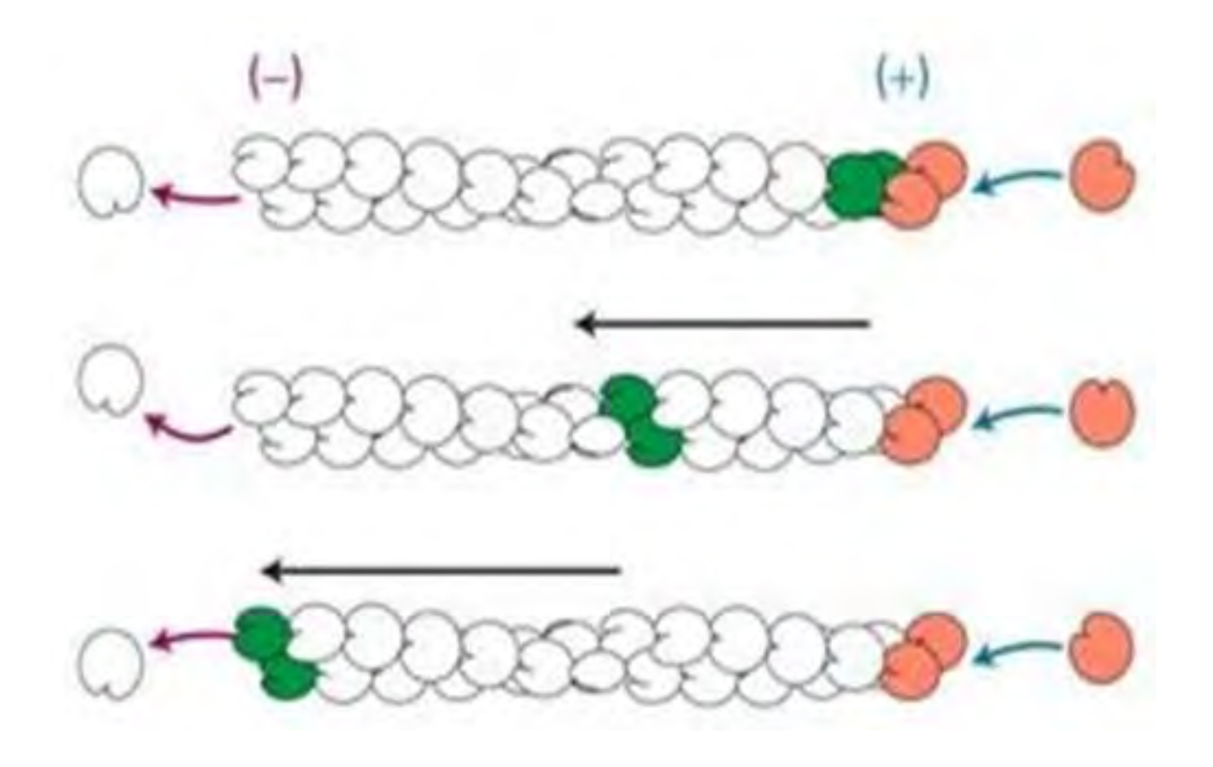
Polymérisation

Hydrolyse d ' ATP en ADP



Dépolymérisation

Dynamique en tapis roulant (Schéma 9, P 58)



Le mécanisme de tapis roulant implique que les monomères s'incorporent au bout +, voyagent le long du filament et quittent le filament au bout -
Les monomères dissociés sont remplacés par d'autres à l'extrémité +

B : les microfilaments fins d'actine

plan

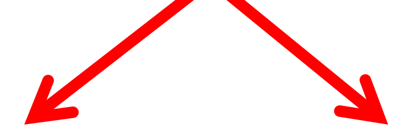
Ultrastructure et architecture moléculaire

Propriétés

Variétés et distribution

Protéines associées

Protéines associées à l'actine et leurs effets



Dans les cellules non musculaires

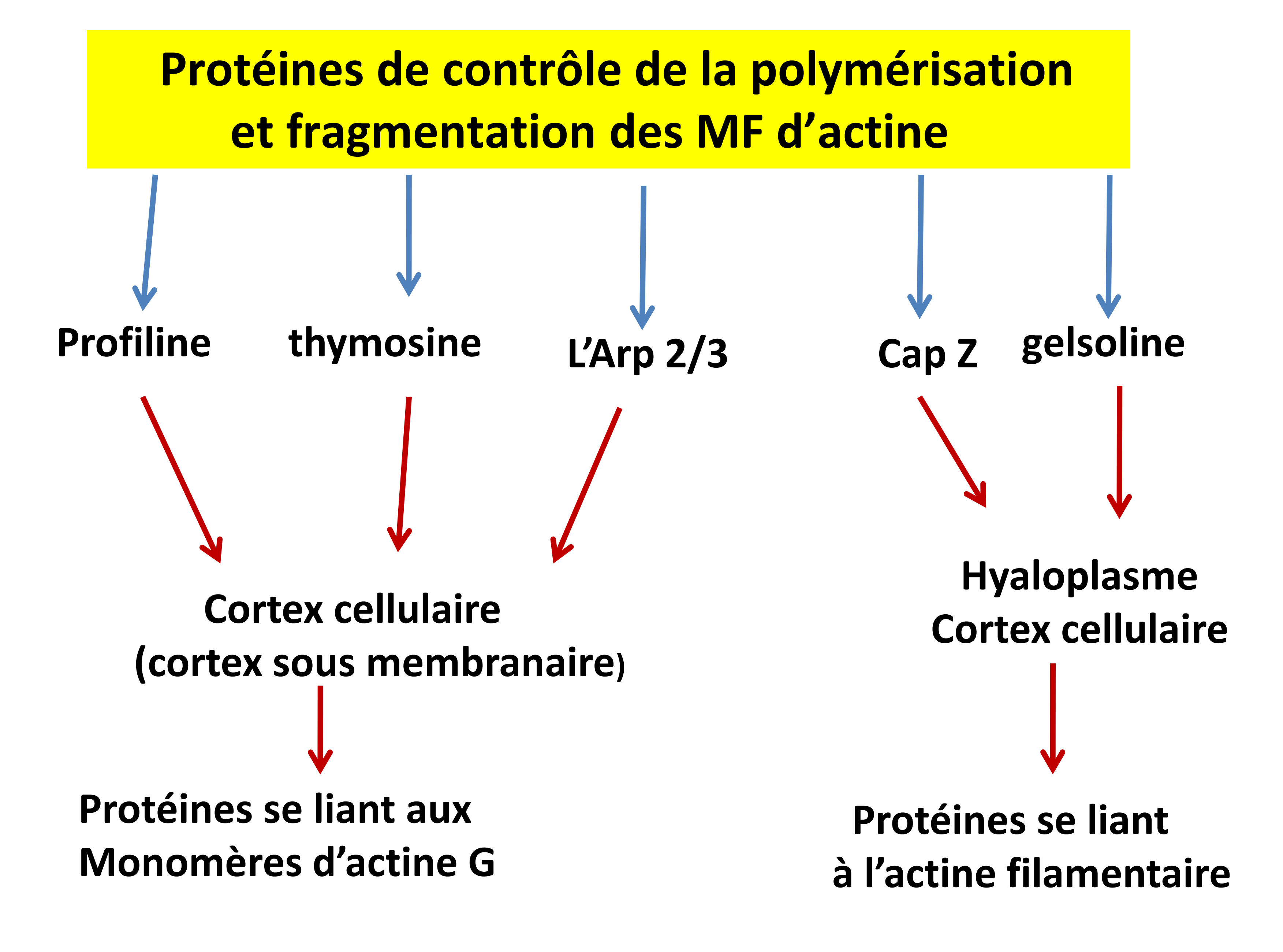
- Contrôle de la polymérisation
- Fragmentation
- Fasciculation
- Réticulation
- Mouvement
- Ancrage à la membrane plasmique

(Fasciculation, Réticulation) : Organisation des MF

Dans les cellules musculaires

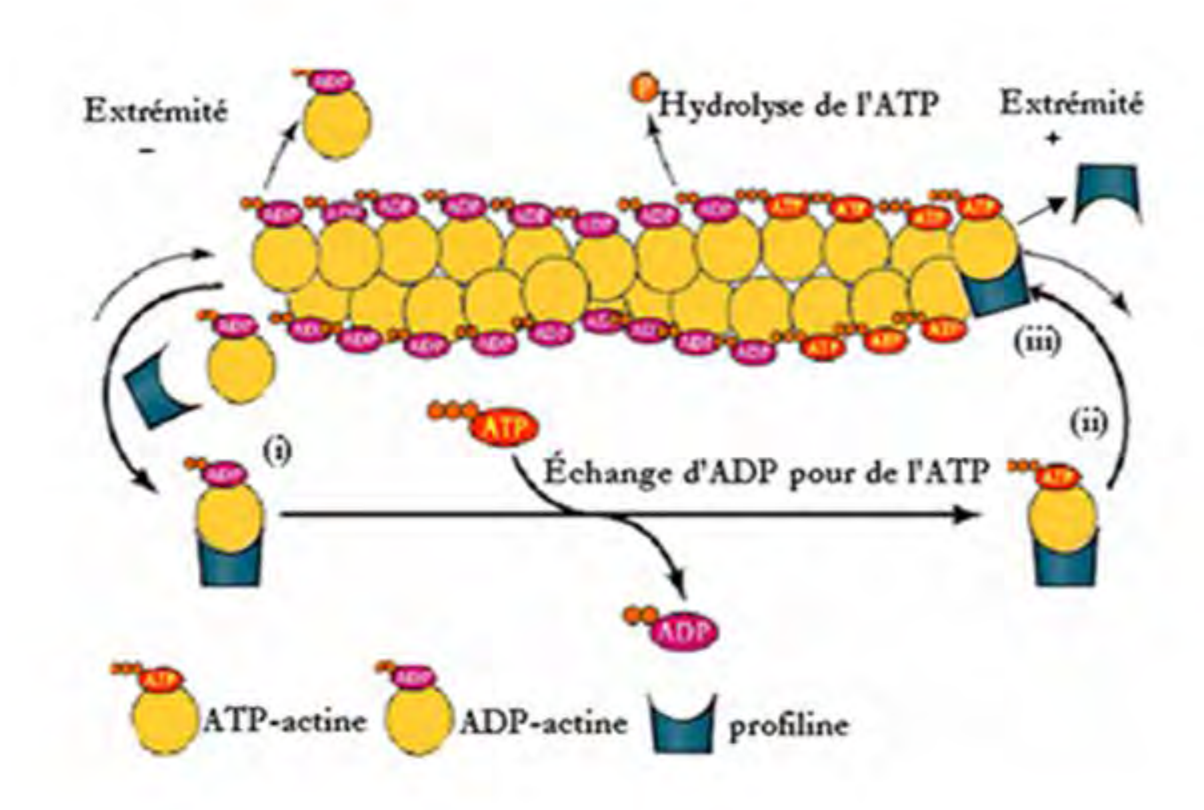
- Capping
- Pontage des faisceaux d'actine
- Contrôle de la contraction

Protéines associées à l'actine dans les cellules non musculaires


Protéines de contrôle de la polymérisation
et fragmentation des MF d'actine
Profiline
thymosine
L'Arp 2/3
Cap Z
gelsoline
Cortex cellulaire
(cortex sous membranaire)
Hyaloplasme
Cortex cellulaire
Protéines se liant aux
Monomères d'actine G
Protéines se liant
à l'actine filamentaire

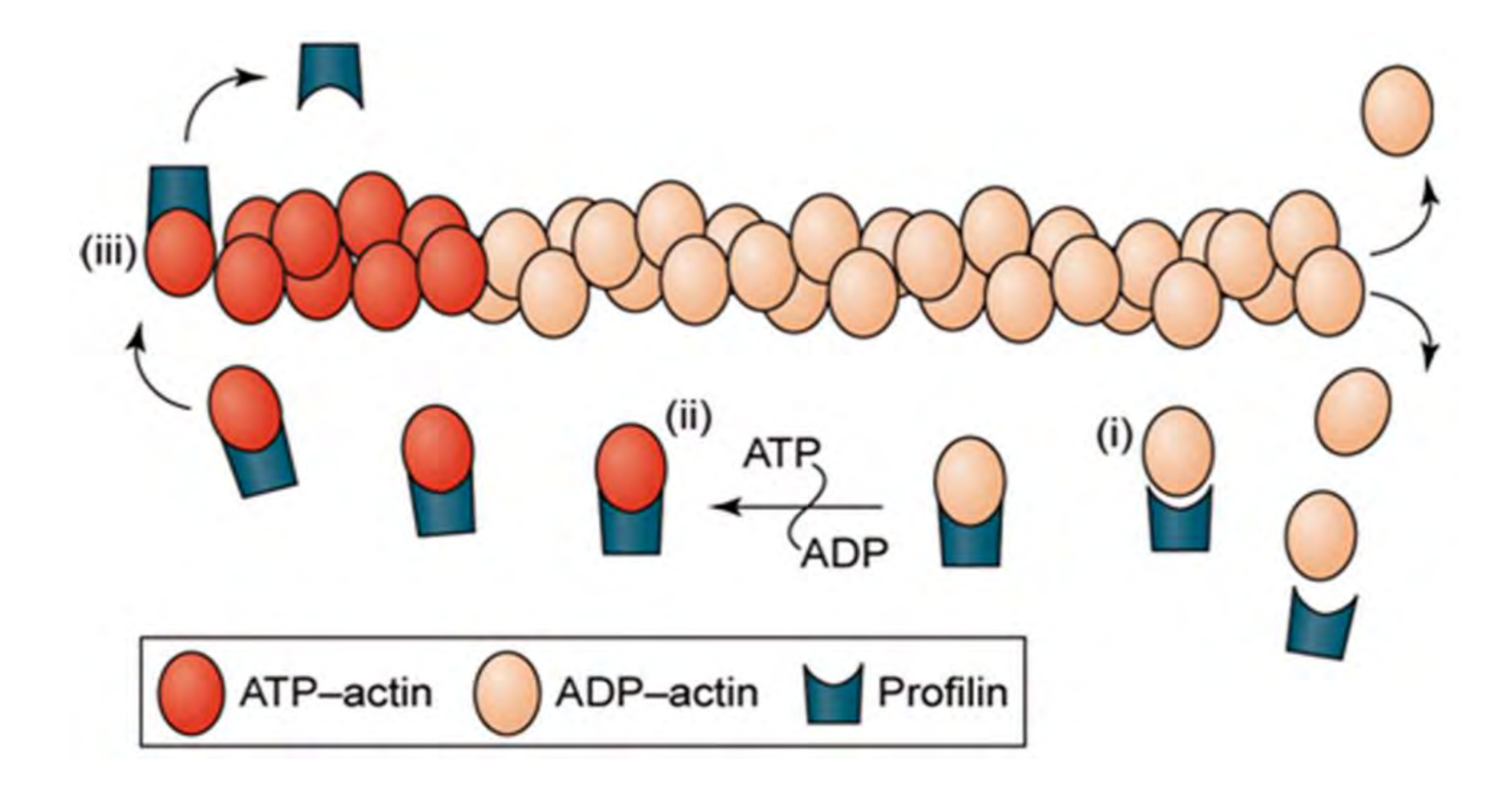
Contrôle de la polymérisation

Activation de la polymérisation par la profiline

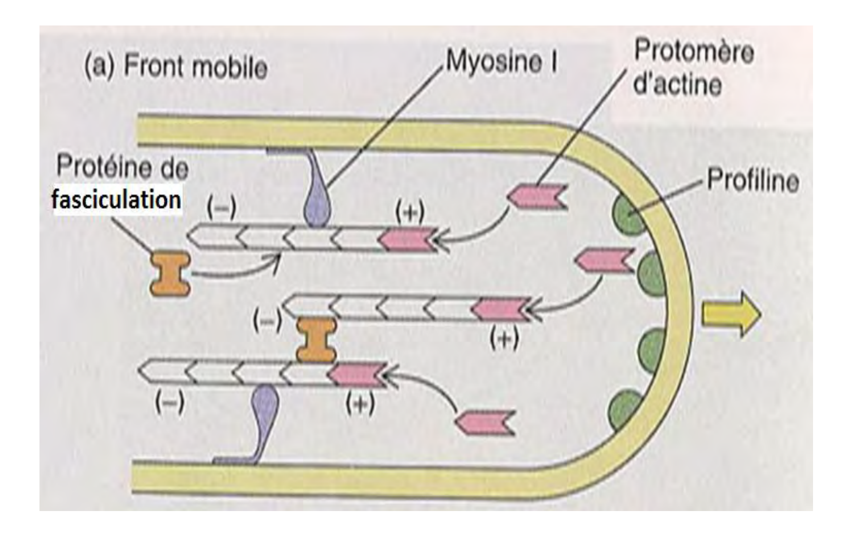


Elle se fixe à l'actine et stimule l'échange de l'ADP par l'ATP (forme un pool d'actine G-ATP) favorisant la polymérisation

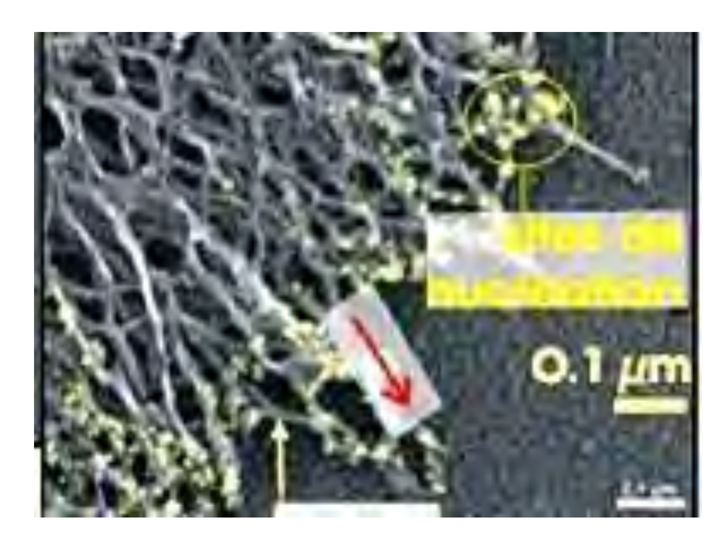
L’interaction profiline – actine G favorise une polymérisation rapide et locale des MF d’actine



Intervention de la profiline dans la formation de protrusions membranaires



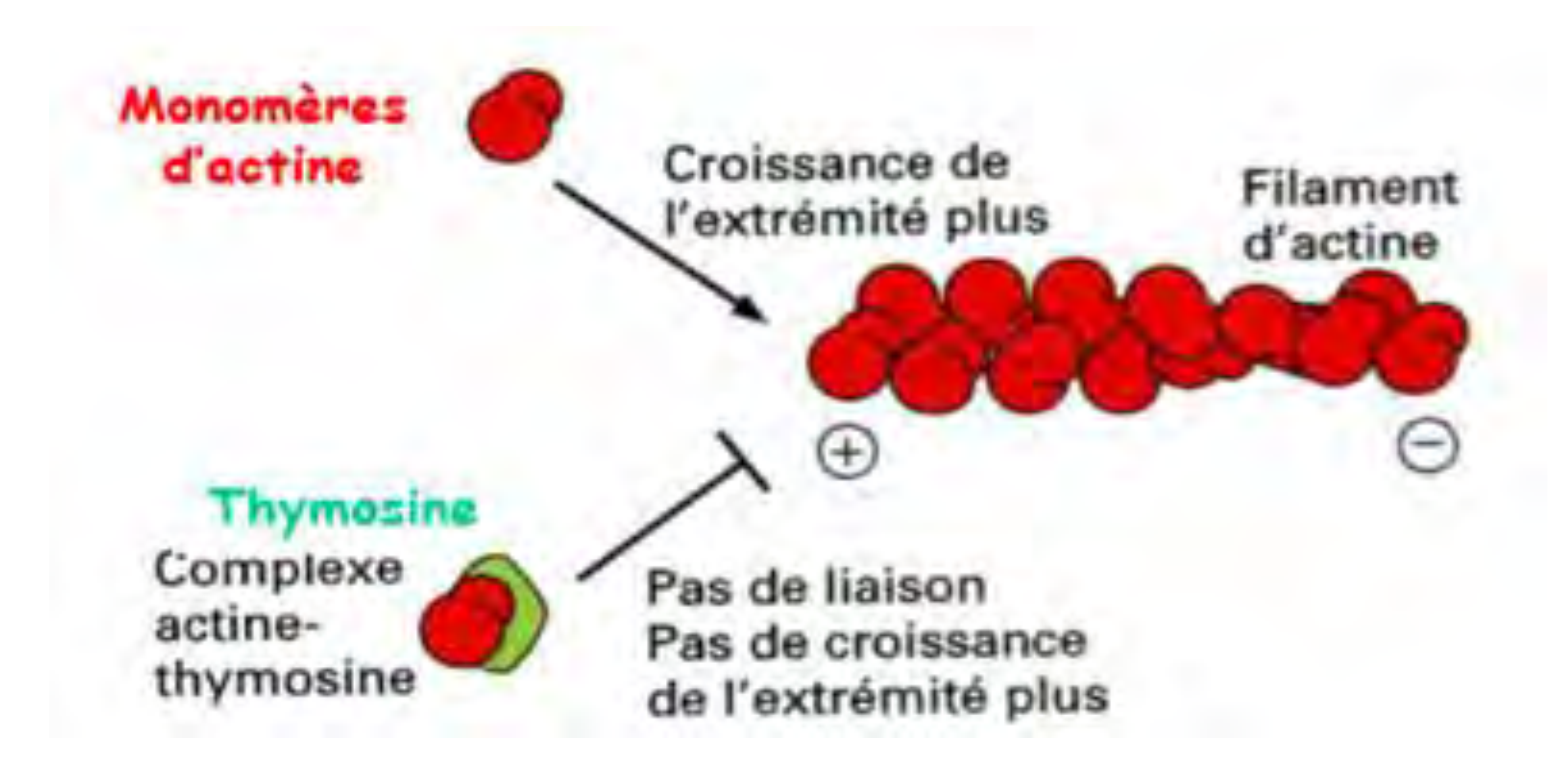
Les MFF du filopode s'organisent en faisceau



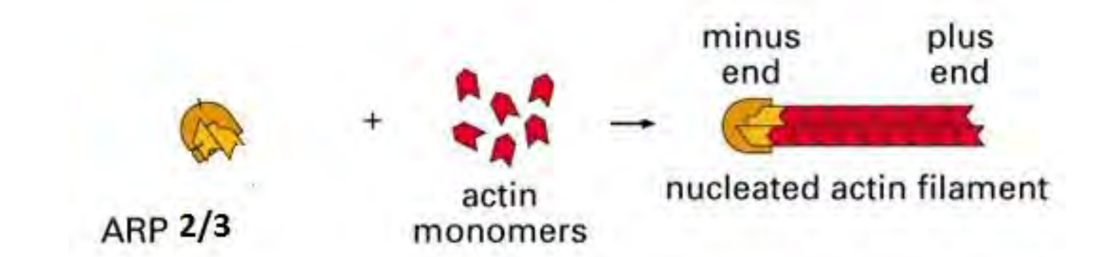
Les MFF du lamellipode s'organisent en réseau

Régulation de la polymérisation de l'actine par la thymosine

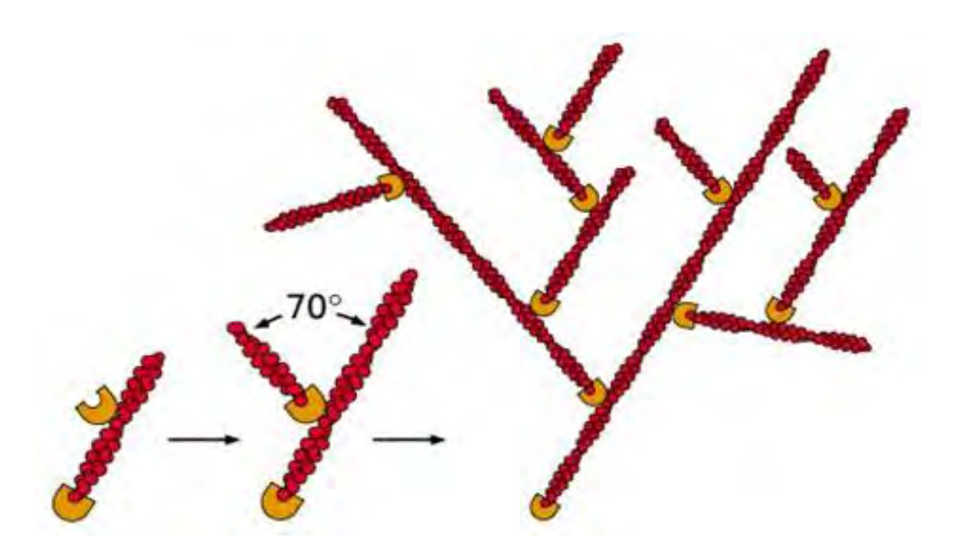
La thymosine se fixe au complexe « actine G – ATP » et le séquestre, inhibant la polymérisation.
Elle favorise la dissociation des monomères à partir du MF



L’Arp 2/3 est responsable de la nucléation de l’actine

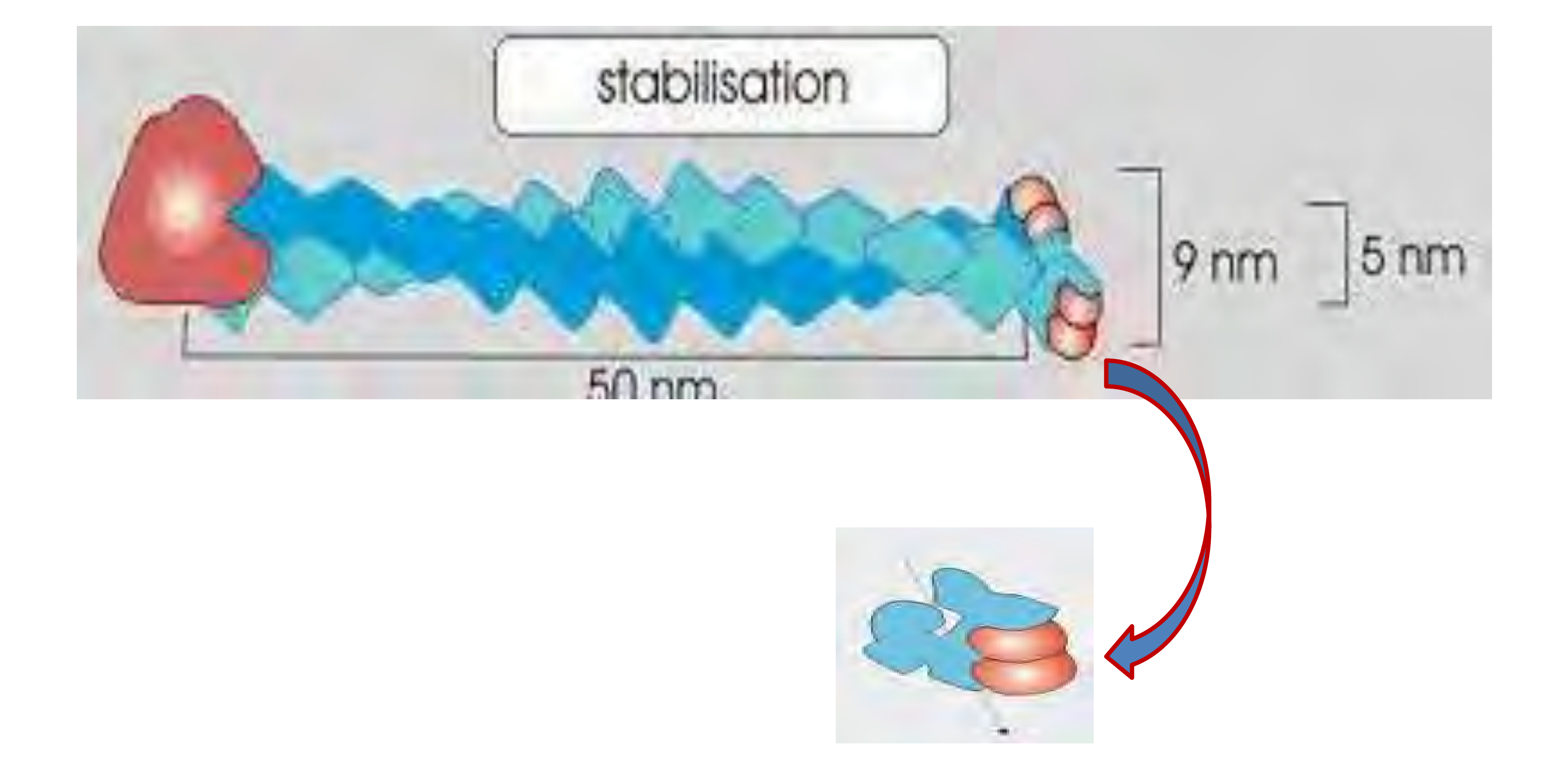


L’Arp 2/3 joue le rôle de γ tubuline pour le microtubule



L’Arp 2/3 favorise la formation d’un réseau d’actine

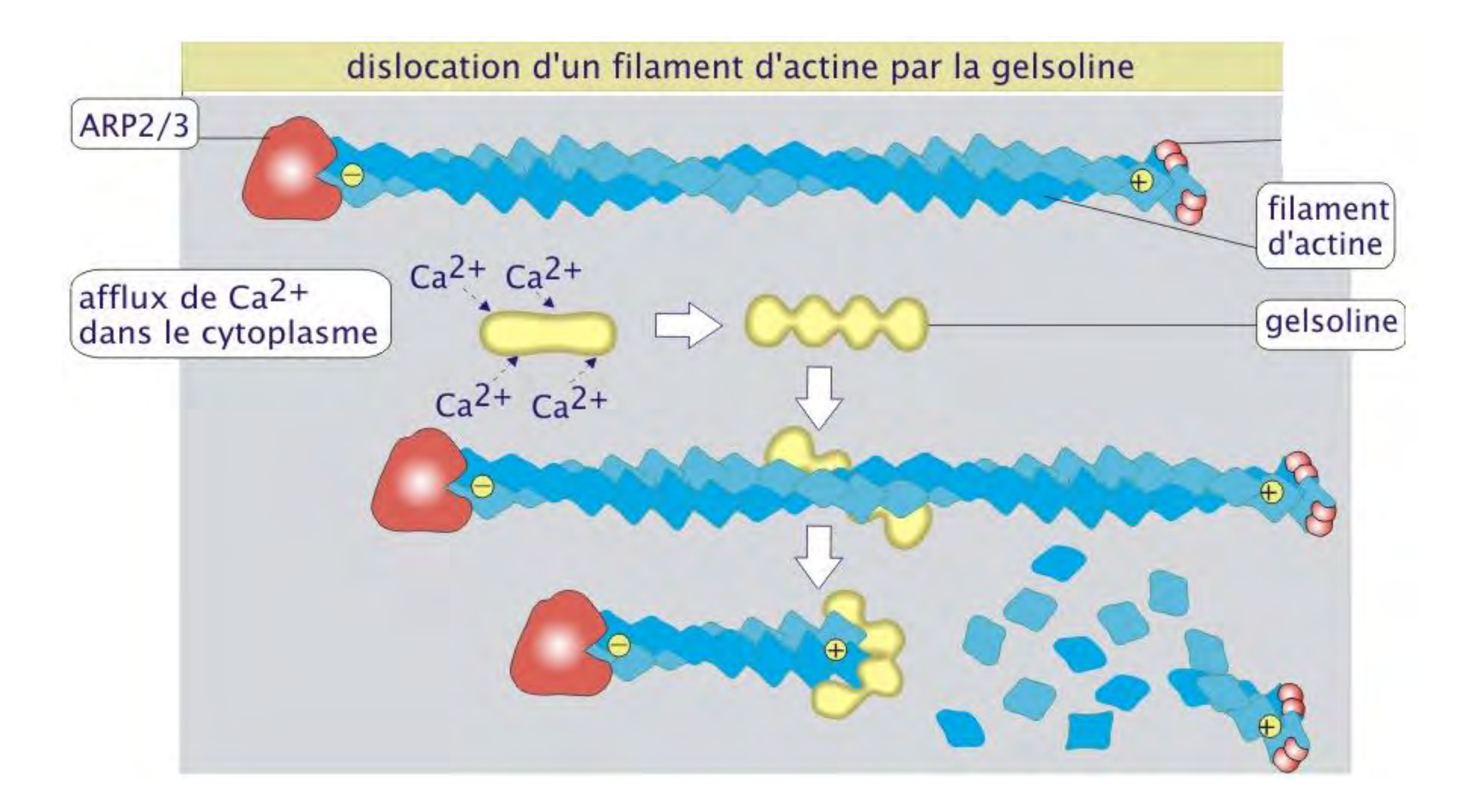
La Cap Z est un dimère qui se fixe à l'extrémité + du filament d'actine pour la stabiliser



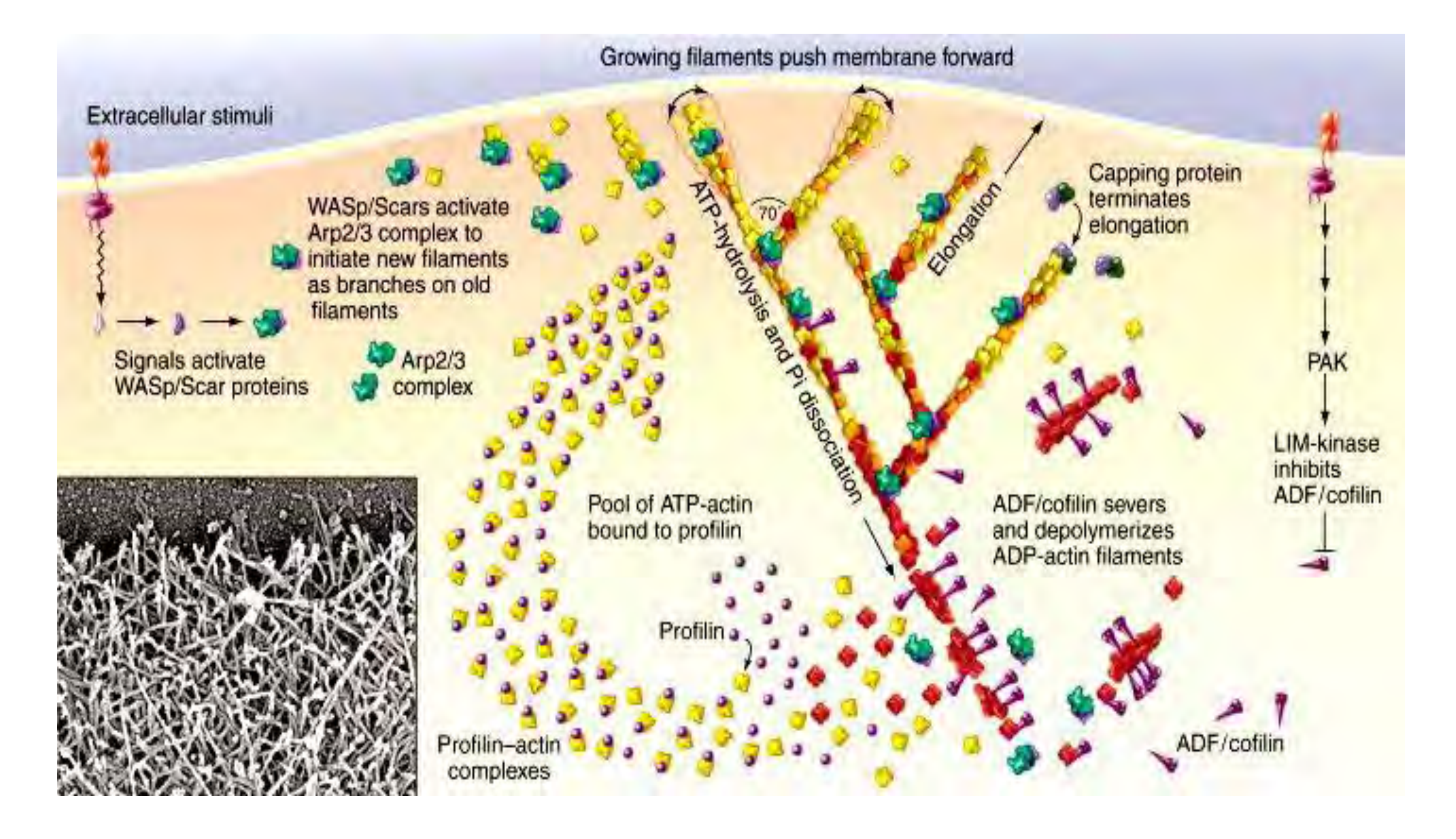
protéines de fragmentation

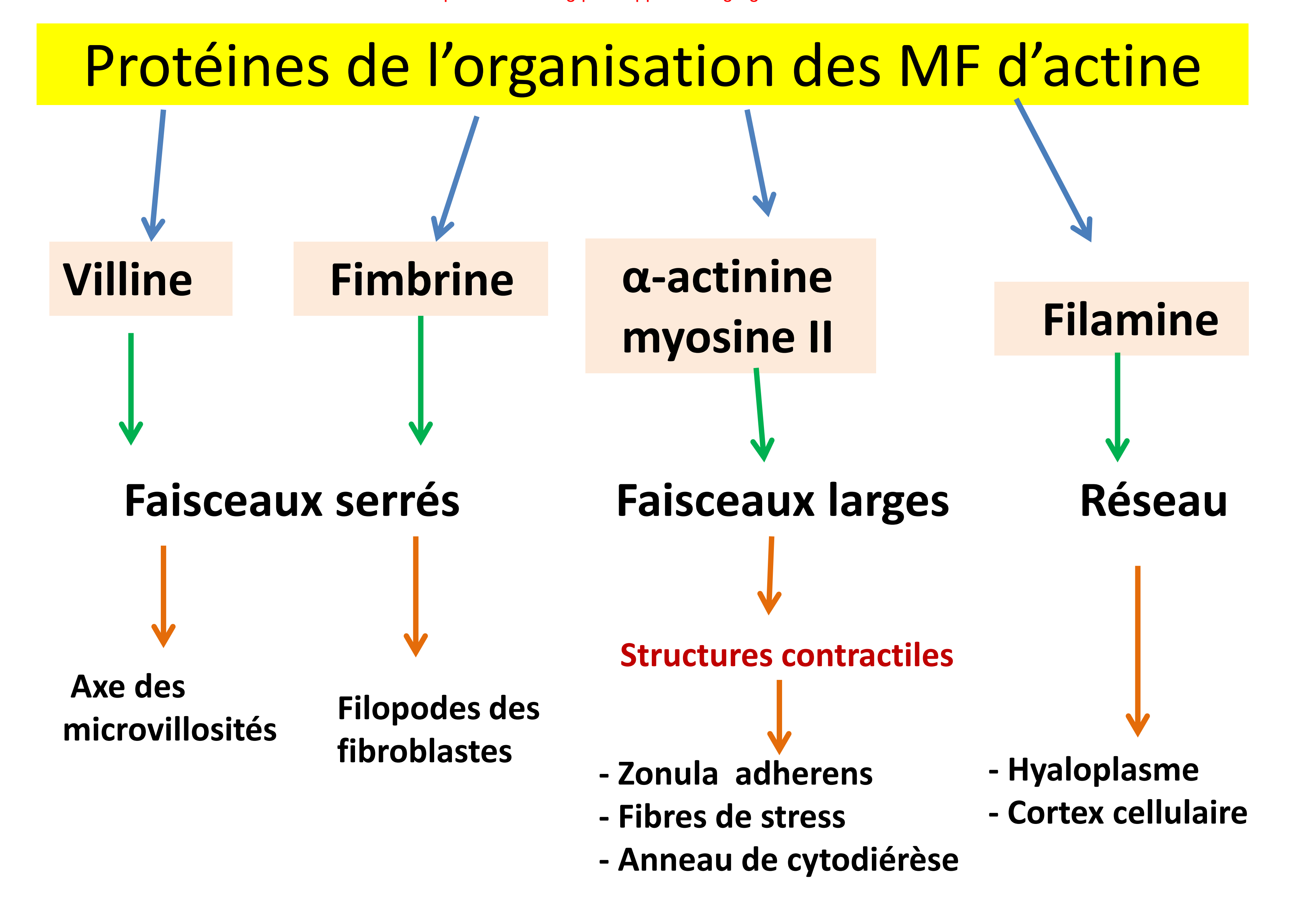
Action de la gelsoline sur les MF du cortex

Au cours de l'exocytose , La gelsoline fragmente les MF du cortex en présence d'une Forte concentration en Ca2+ ⟶ état sol de l'hyaloplasme



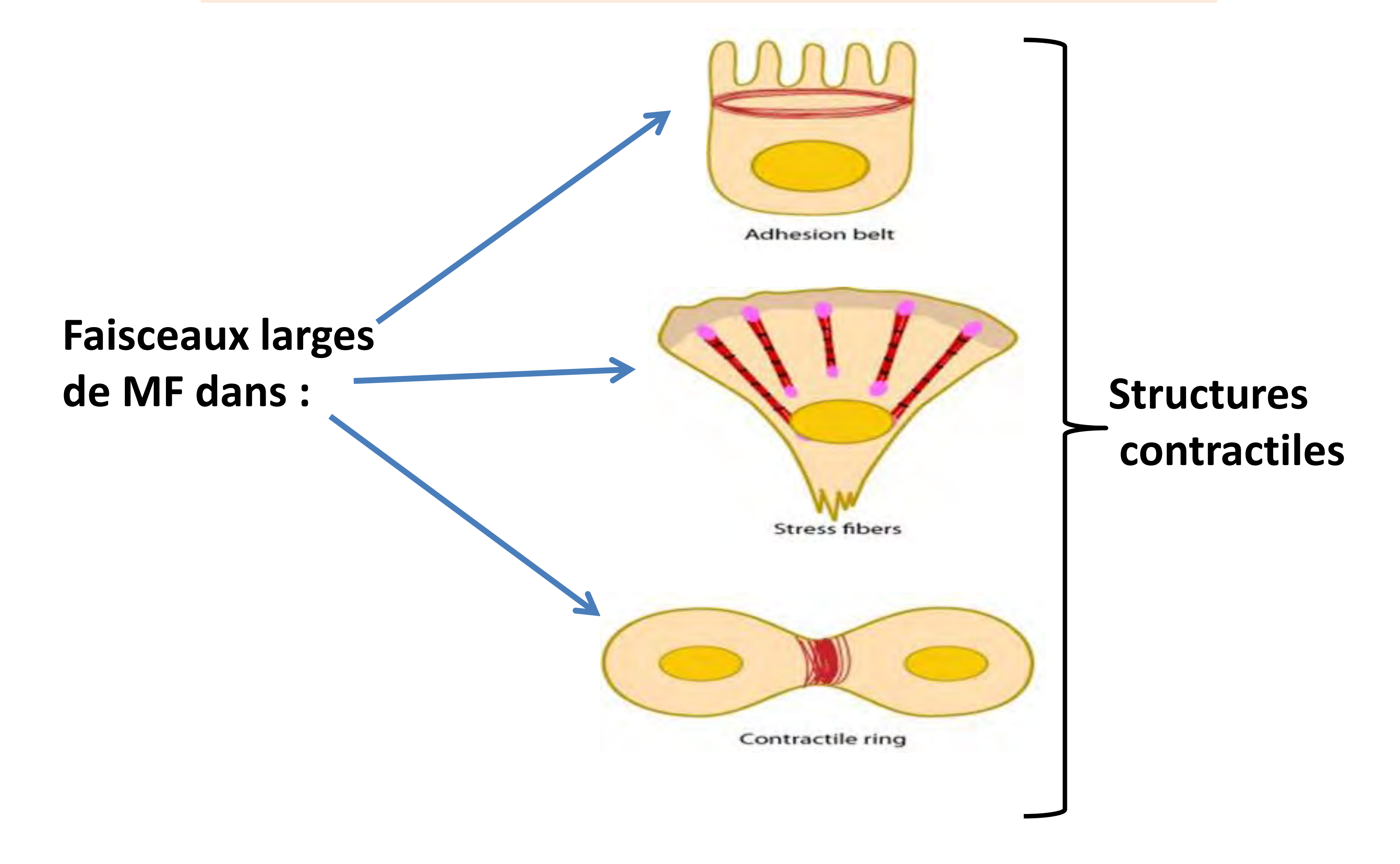
Le pool d'actine généré par la gelsoline est activé par la profiline pour la polymérisation de nouveaux MFF dans un autre site de la cellule



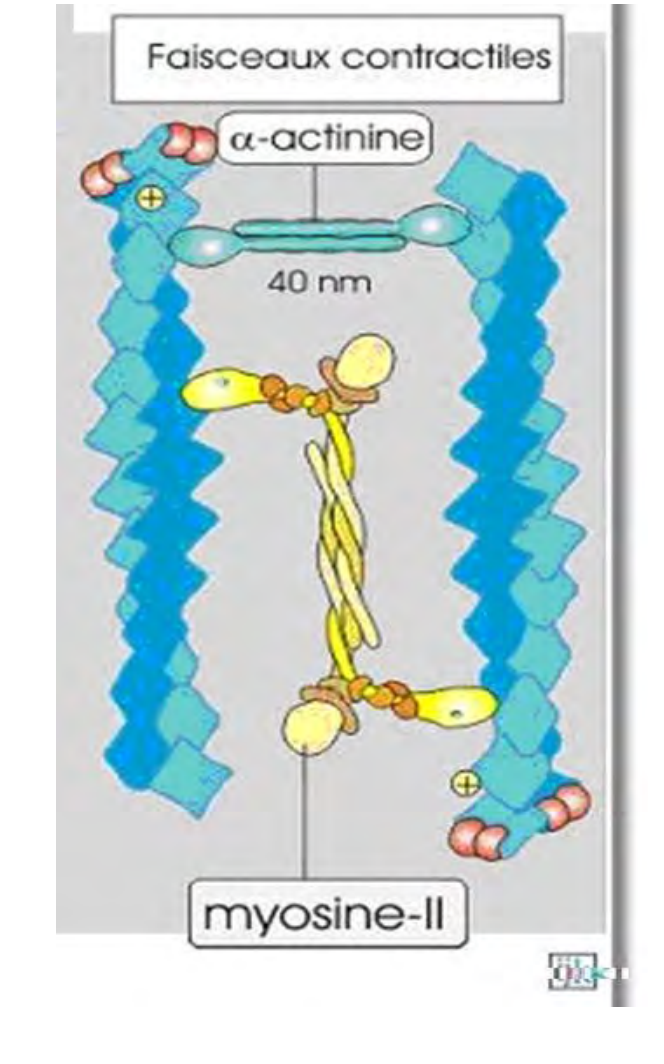

Protéines de l'organisation des MF d'actine
Villine
Fimbrine
α-actinine
myosine II
Filamine
Faisceaux serrés
Faisceaux larges
Réseau
Structures contractiles
Axe des microvillosités
Filopodes des fibroblastes
- Zonula adherens
- Fibres de stress
- Anneau de cytodiérèse
- Hyaloplasme
- Cortex cellulaire

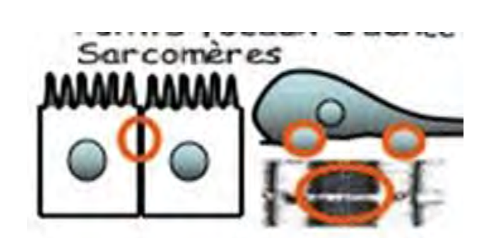
Protéines de fasciculation (organisation des MF en faisceaux)

1 - Organisation des MF en faisceaux larges



Organisation des MF d'actine en faisceaux larges contractiles par α-actinine et myosine II



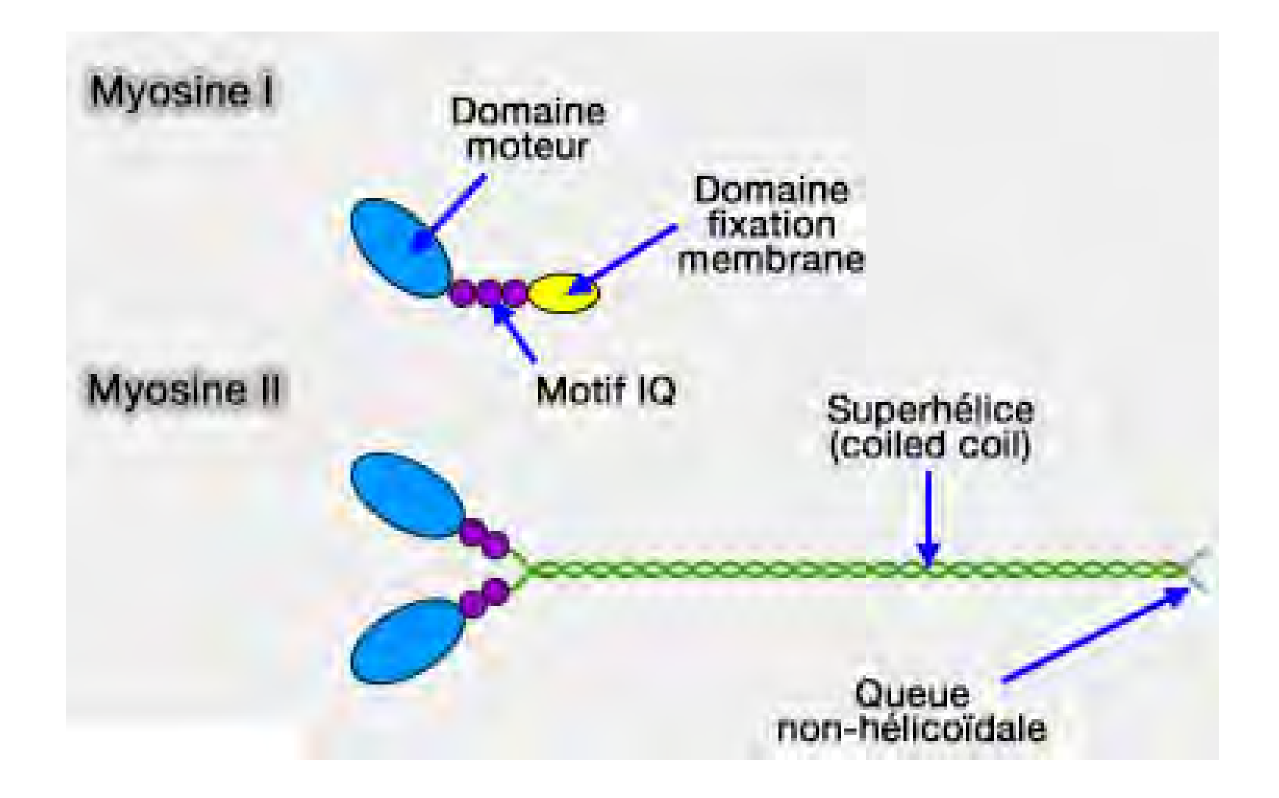


La myosine

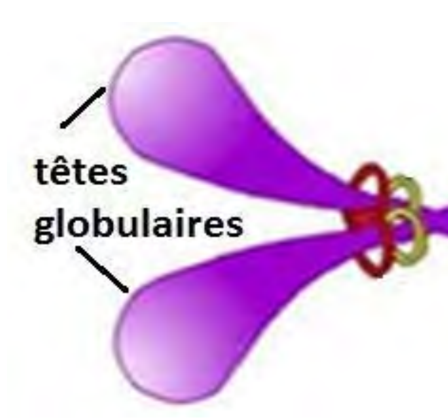
Définition

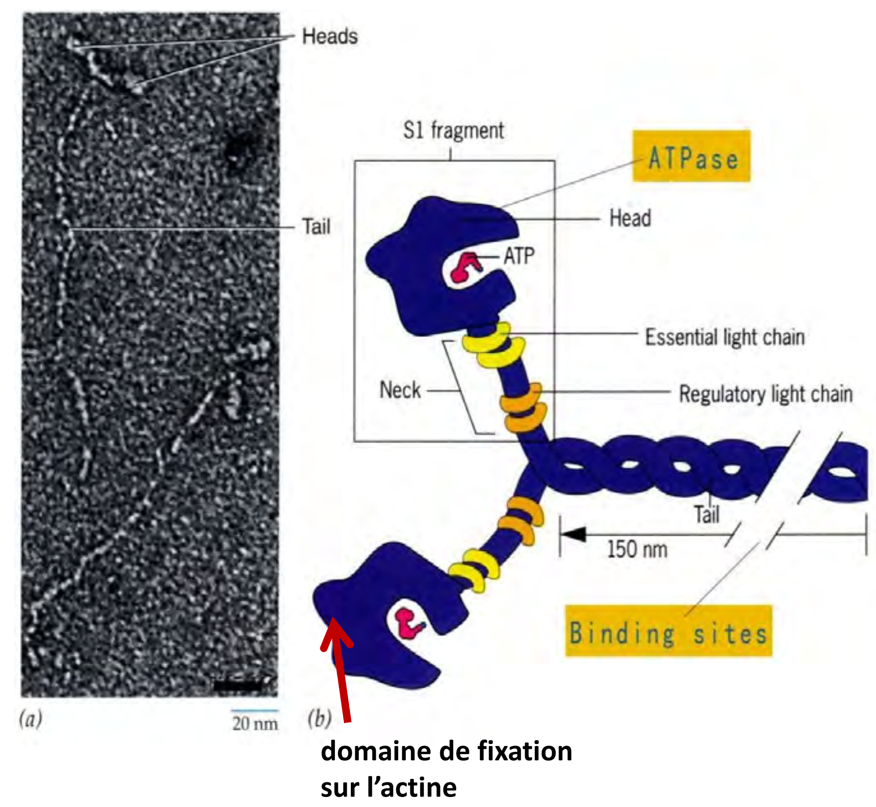
- **La myosine est une protéine hyaloplasmique Présente dans les cellules musculaires et non musculaires.**
- **C'est une protéine qui assure des fonctions contractiles et d'autres non contractiles.**

Il existe différentes isoformes de myosine dans les cellules eucaryotes .On étudie les 2 premières qui interagissent avec les filaments d'actine dans les cellules non musculaires



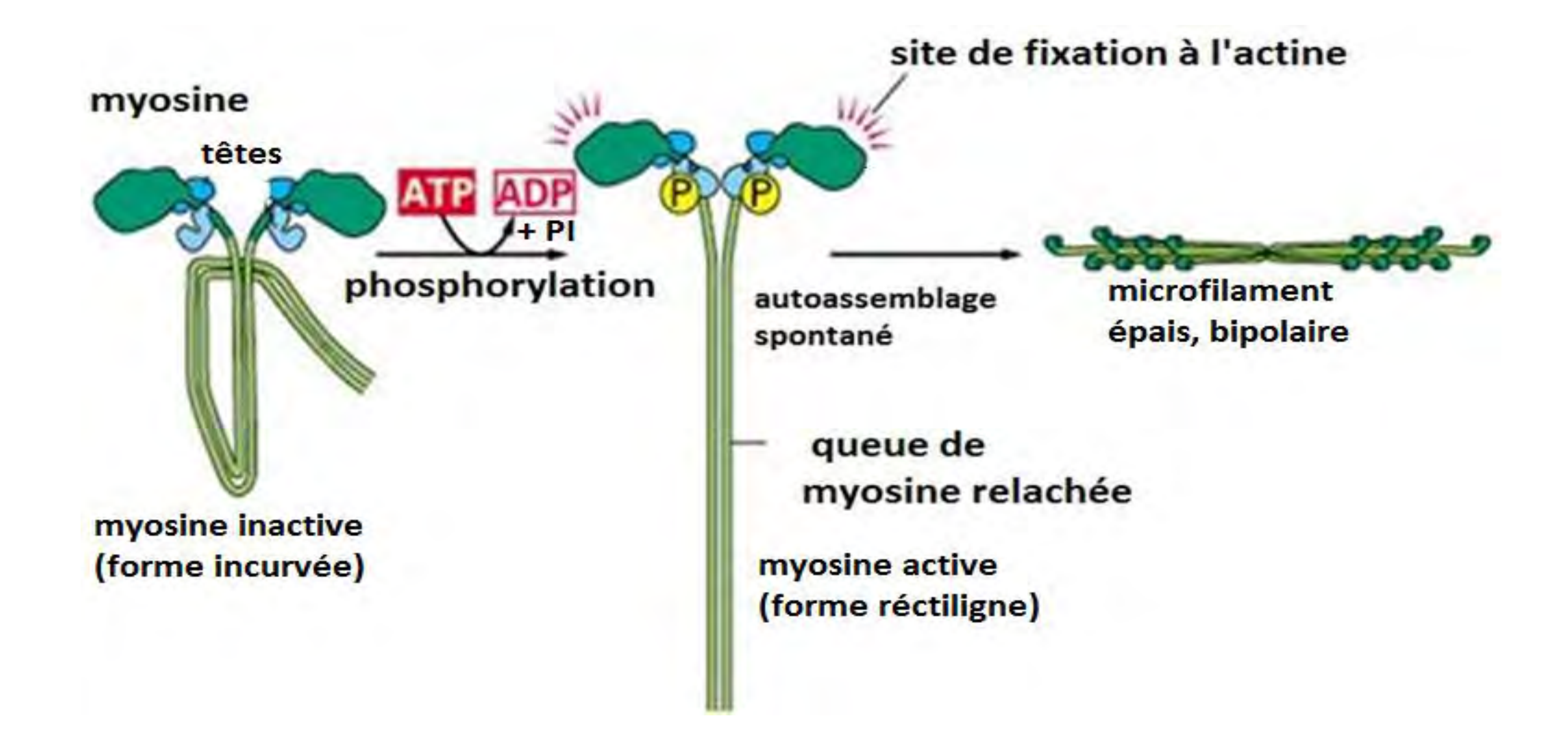
Structure de la myosine II



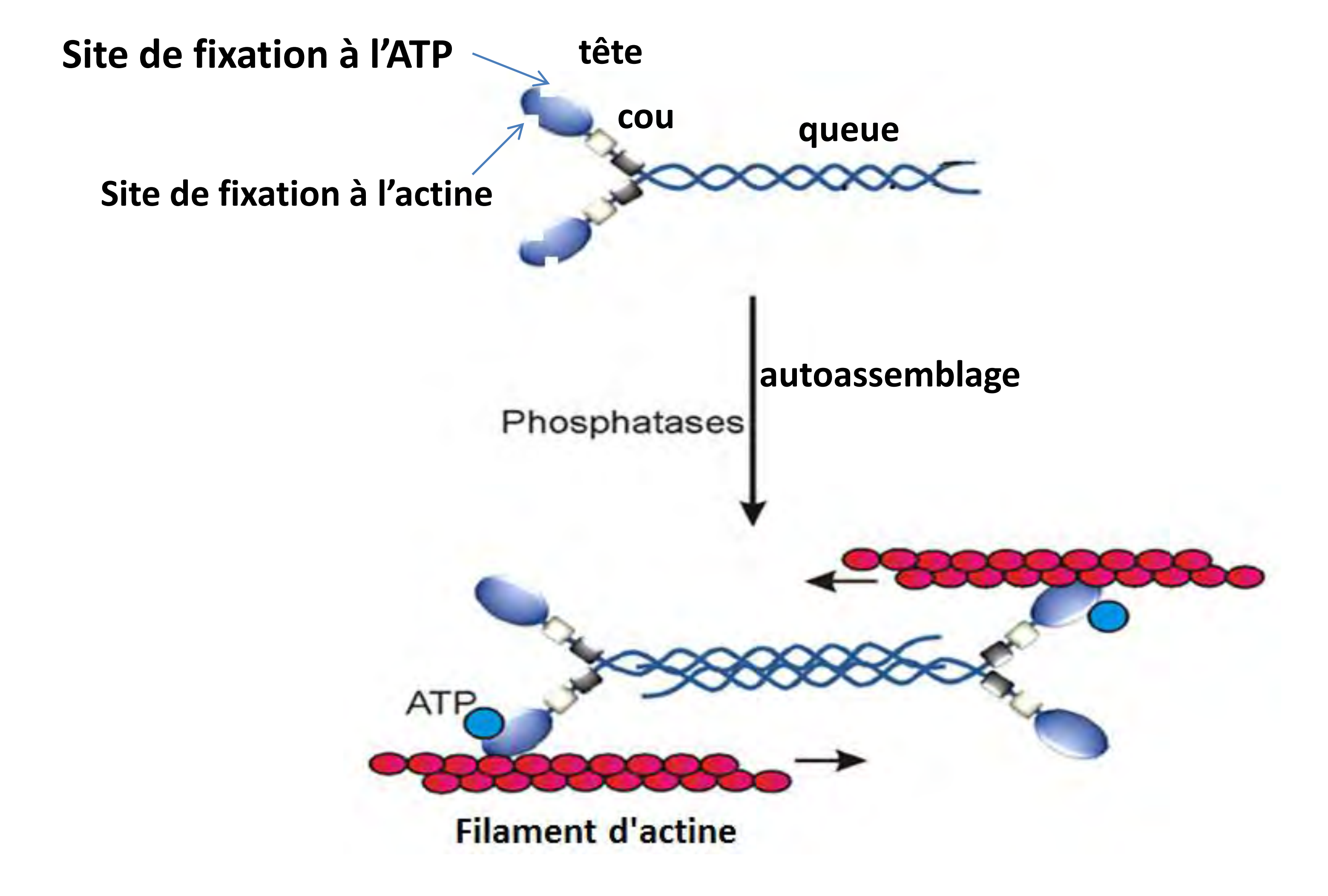


Activation de la myosine II

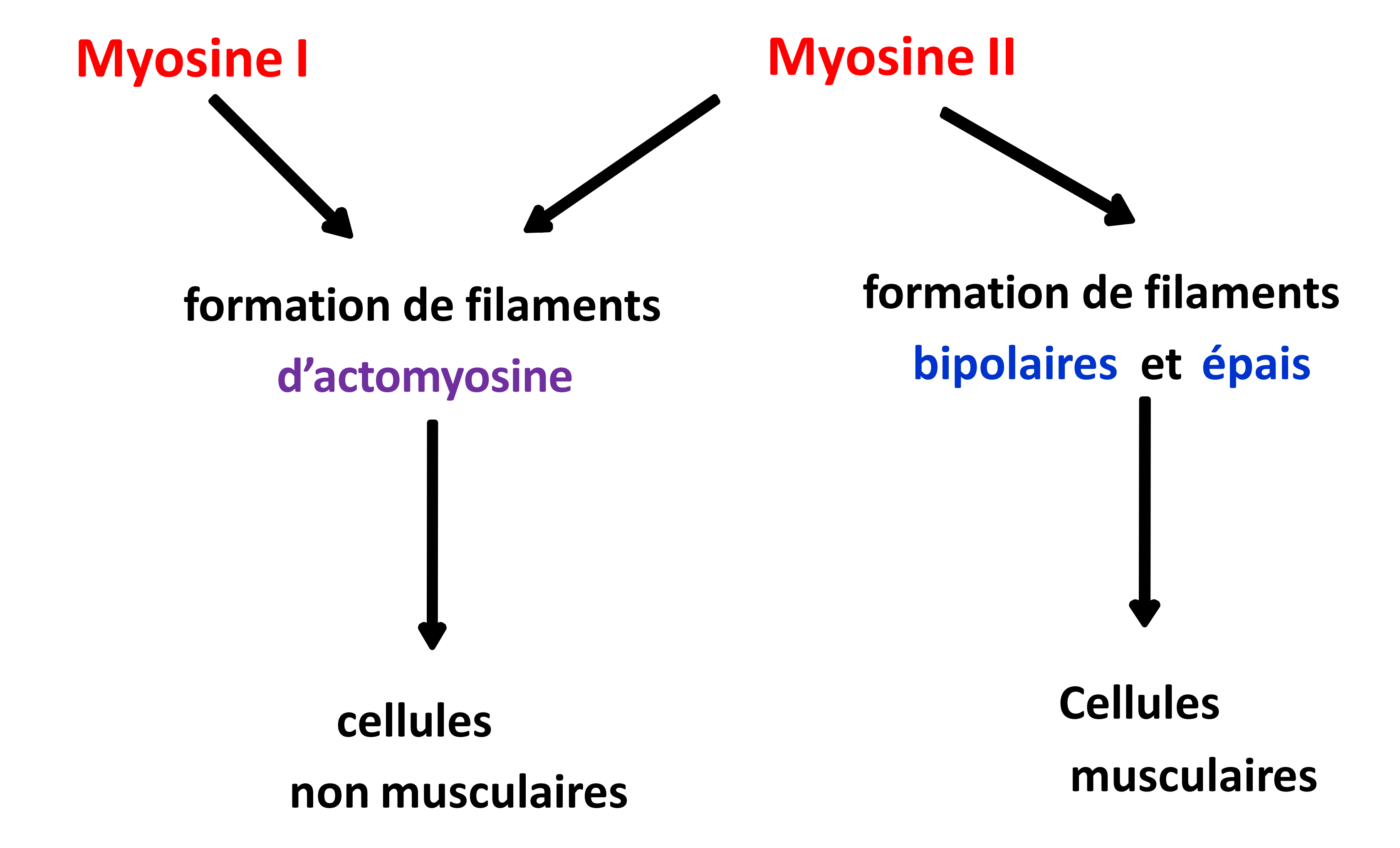
La phosphorylation des têtes induit l'activation des myosines et le changement conformationnel induit leur autoassemblage selon un modèle tête bêche conduisant à la formation de filaments bipolaires



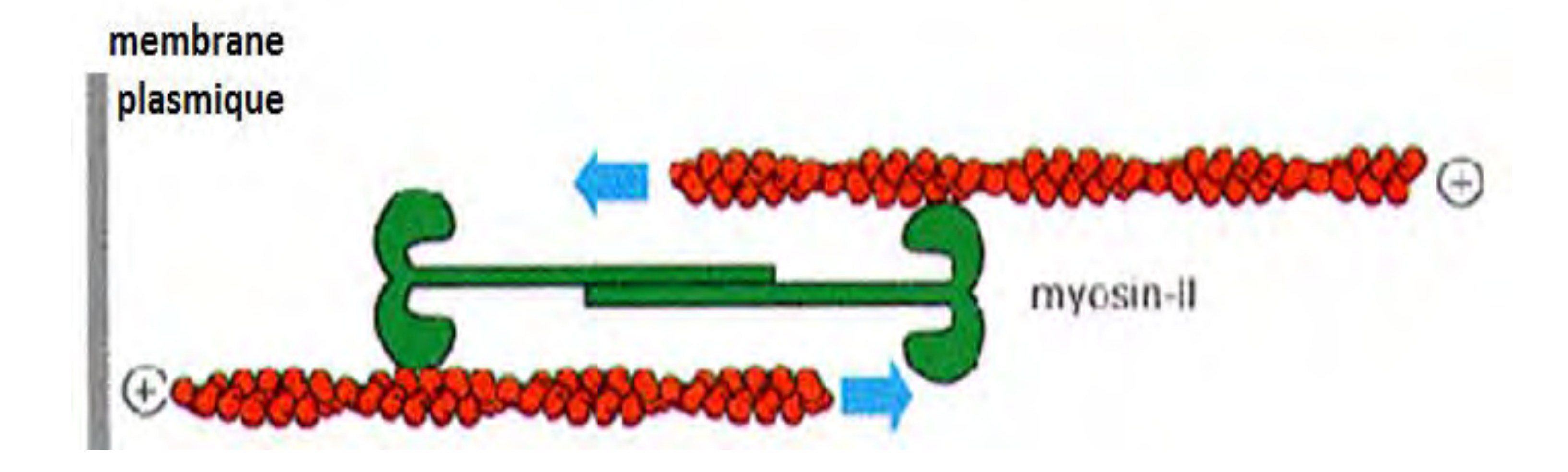
Les deux têtes globulaires à activité ATPasique réagit avec l'actine F



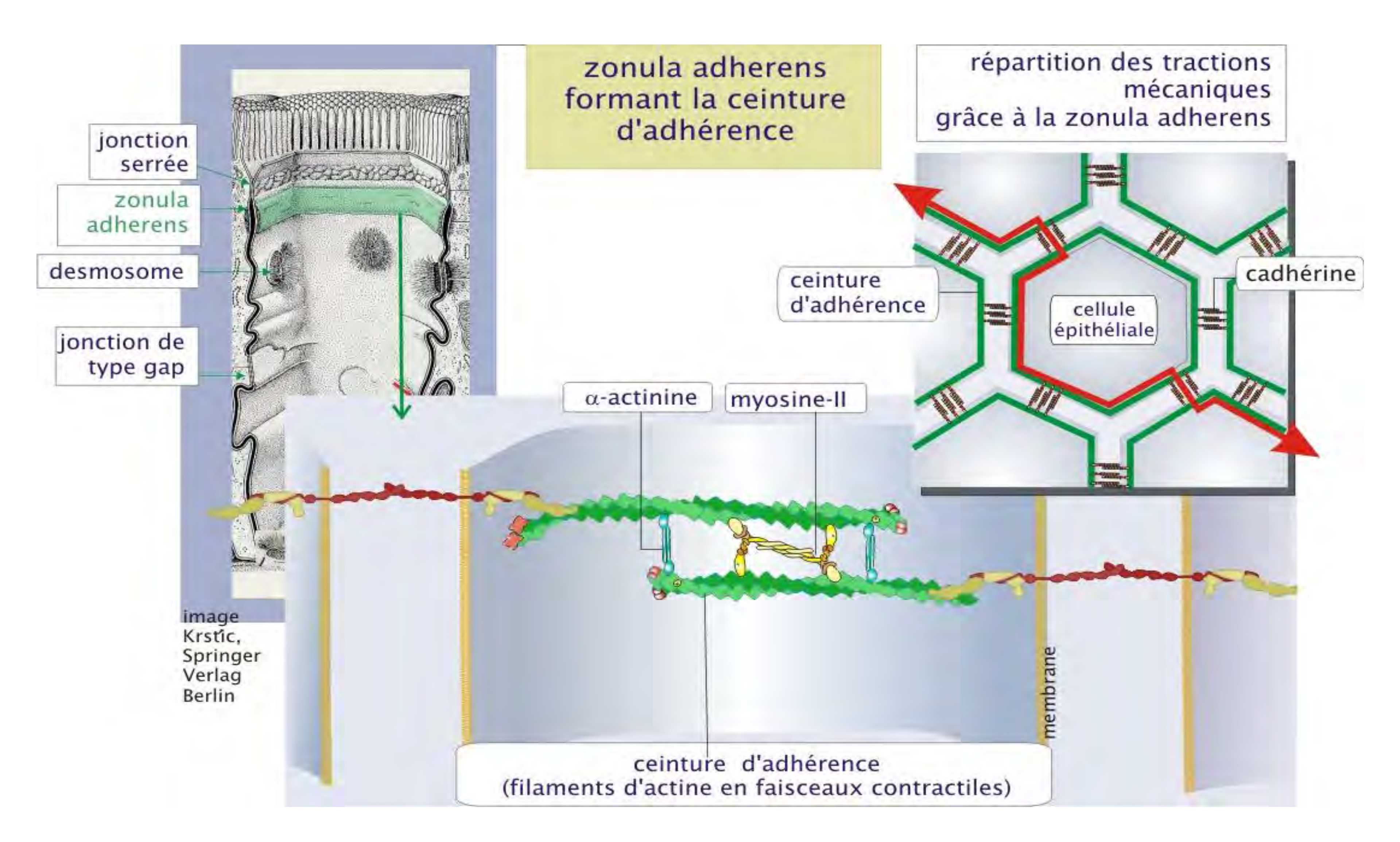
Répartition tissulaire de la myosine I et myosine II



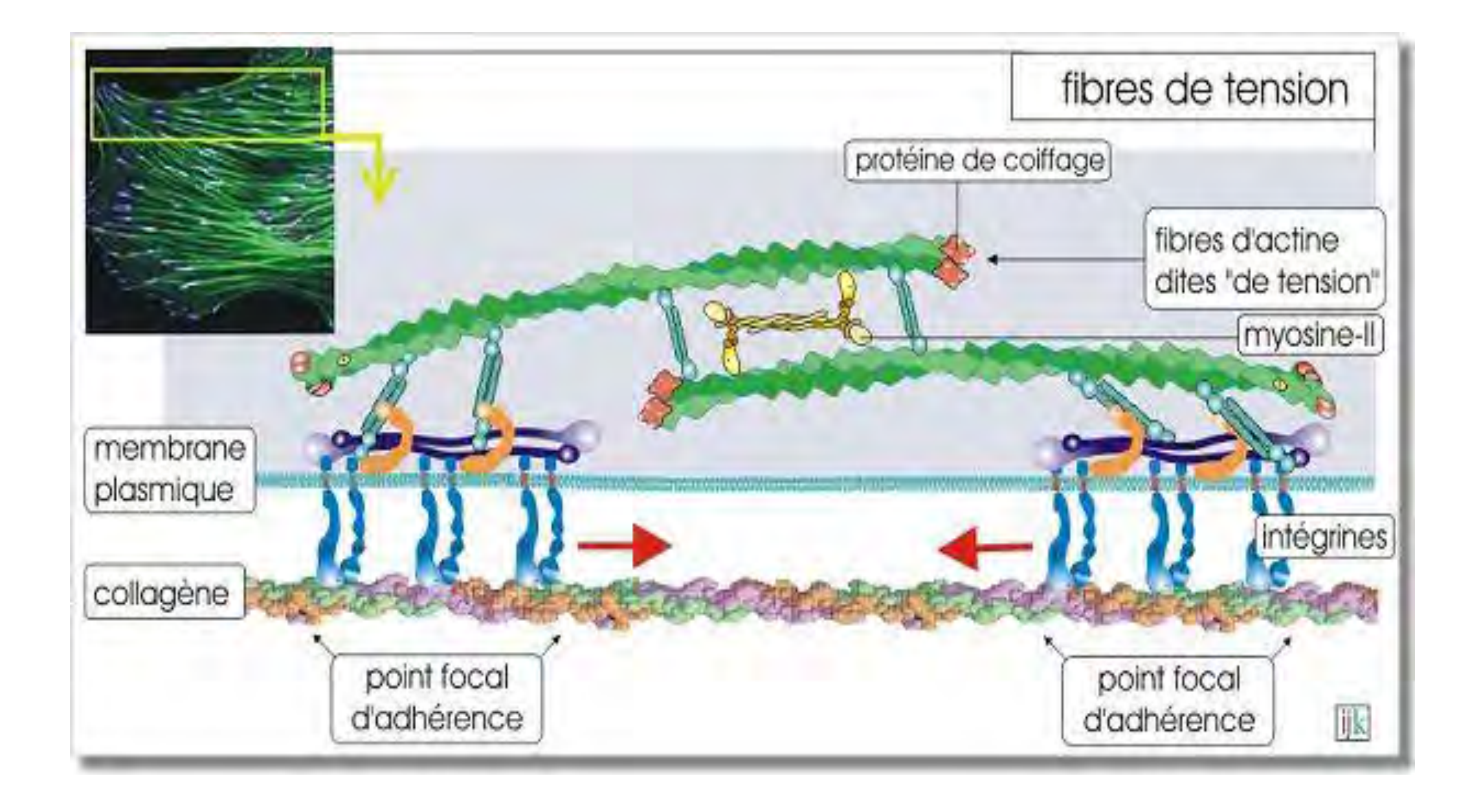
Les filaments d'actomyosine formés par la myosine II dans les cellules non musculaires



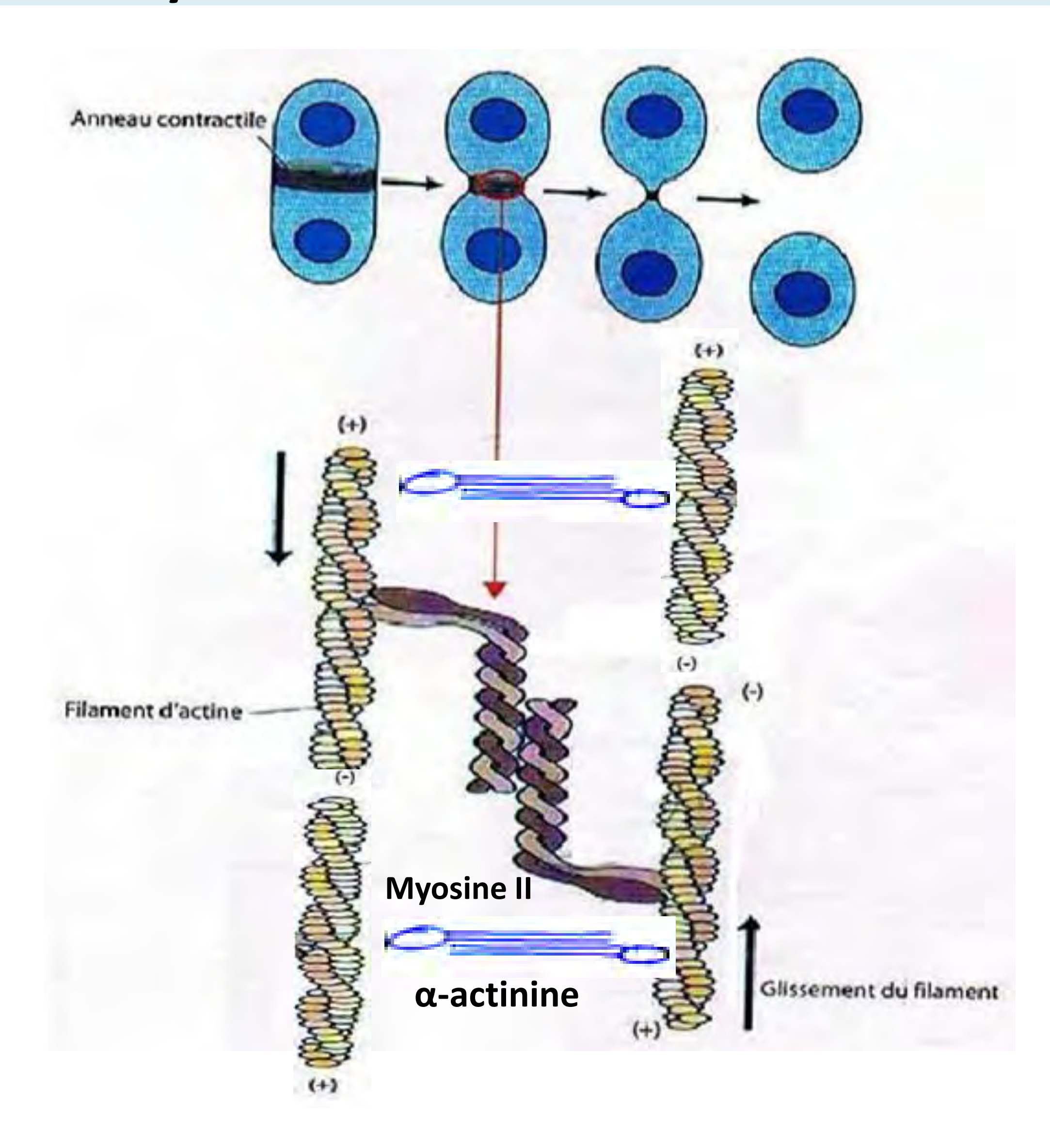
α-actinine avec myosine II associée aux MF d'actine dans la ceinture d'adhérence des cellules épithéliales



α- actinine et myosine II forment avec les filaments d'actine des fibres de stress (de tension)

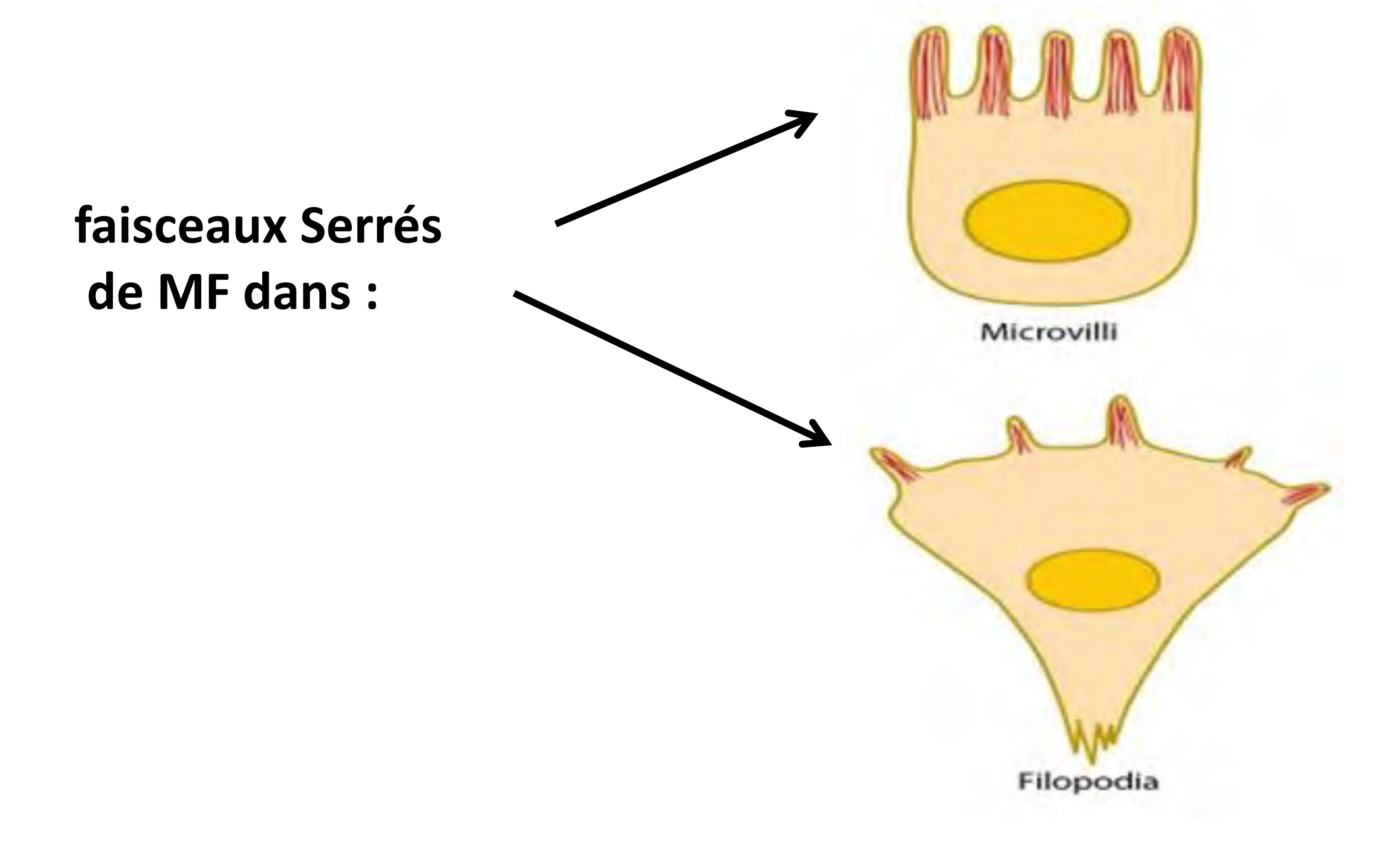


α-actinine et myosine II associées aux MF d'actine dans l'anneau de cytodiérèse des cellules en fin de division



2 - Organisation des MF en faisceaux serrés

faisceaux Serrés de MF dans :



Organisation des MF d'actine en faisceaux serrés par la fimbrine –villine dans l'axe microvillositaire

MICROVILLOSITÉ INTESTINALE (COUPE LONGITUDINALE)

Extrémité – des microfilaments

Protéine d'ancrage (myosine I)

Microfilaments
-25à 30fibres parallèles
-1 à 2µm de hauteur

Fimbrine

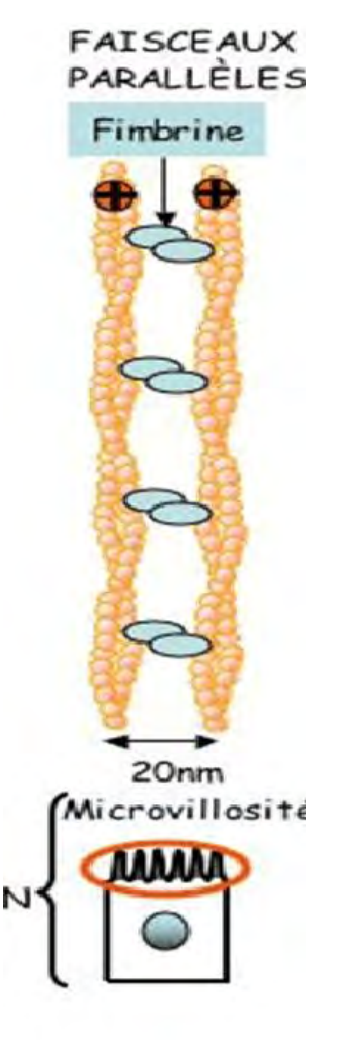
Villine
(assemblage et consolidation des microfilaments)

Membrane plasmique

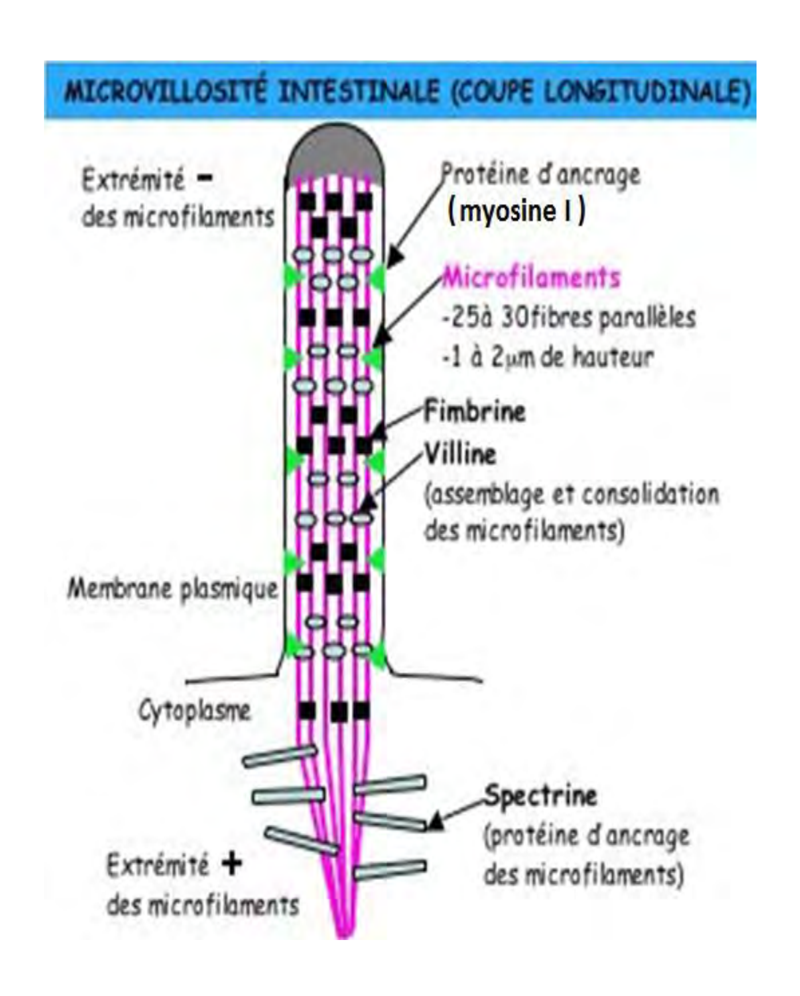
Cytoplasme

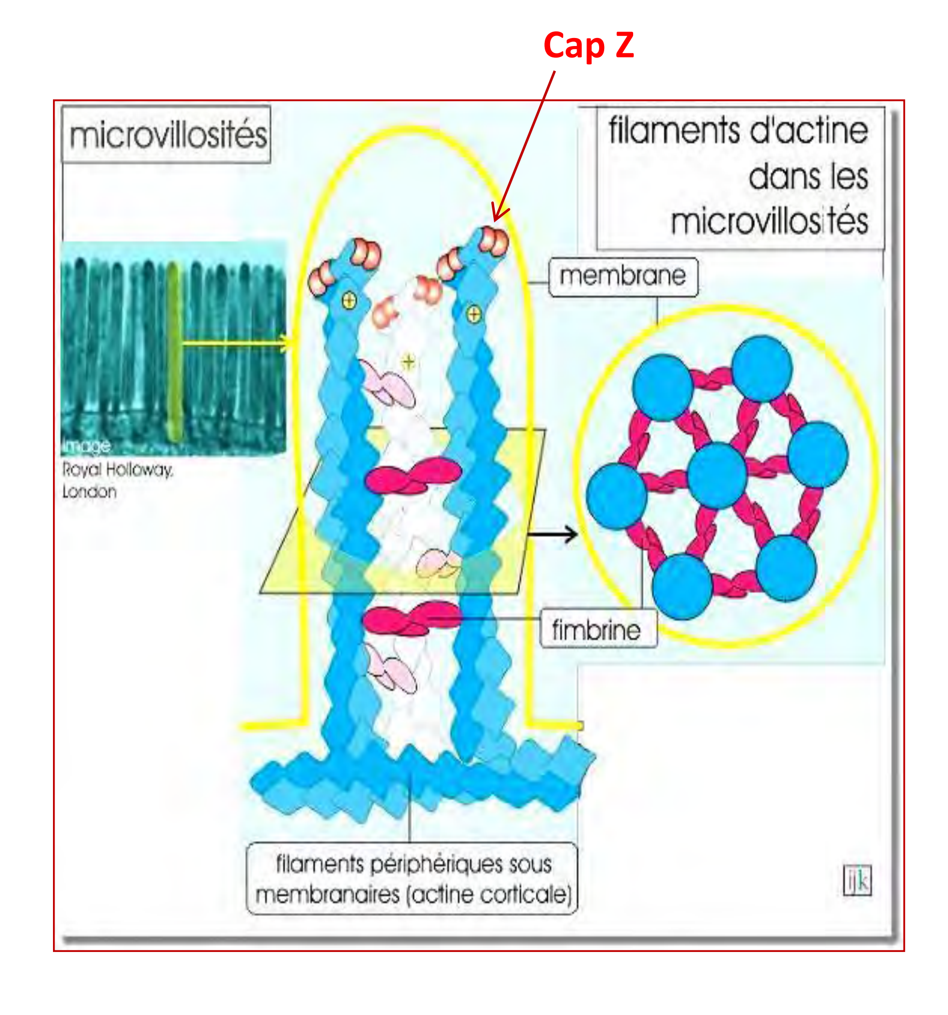
Spectrine
(protéine d'ancrage des microfilaments)

Extrémité + des microfilaments

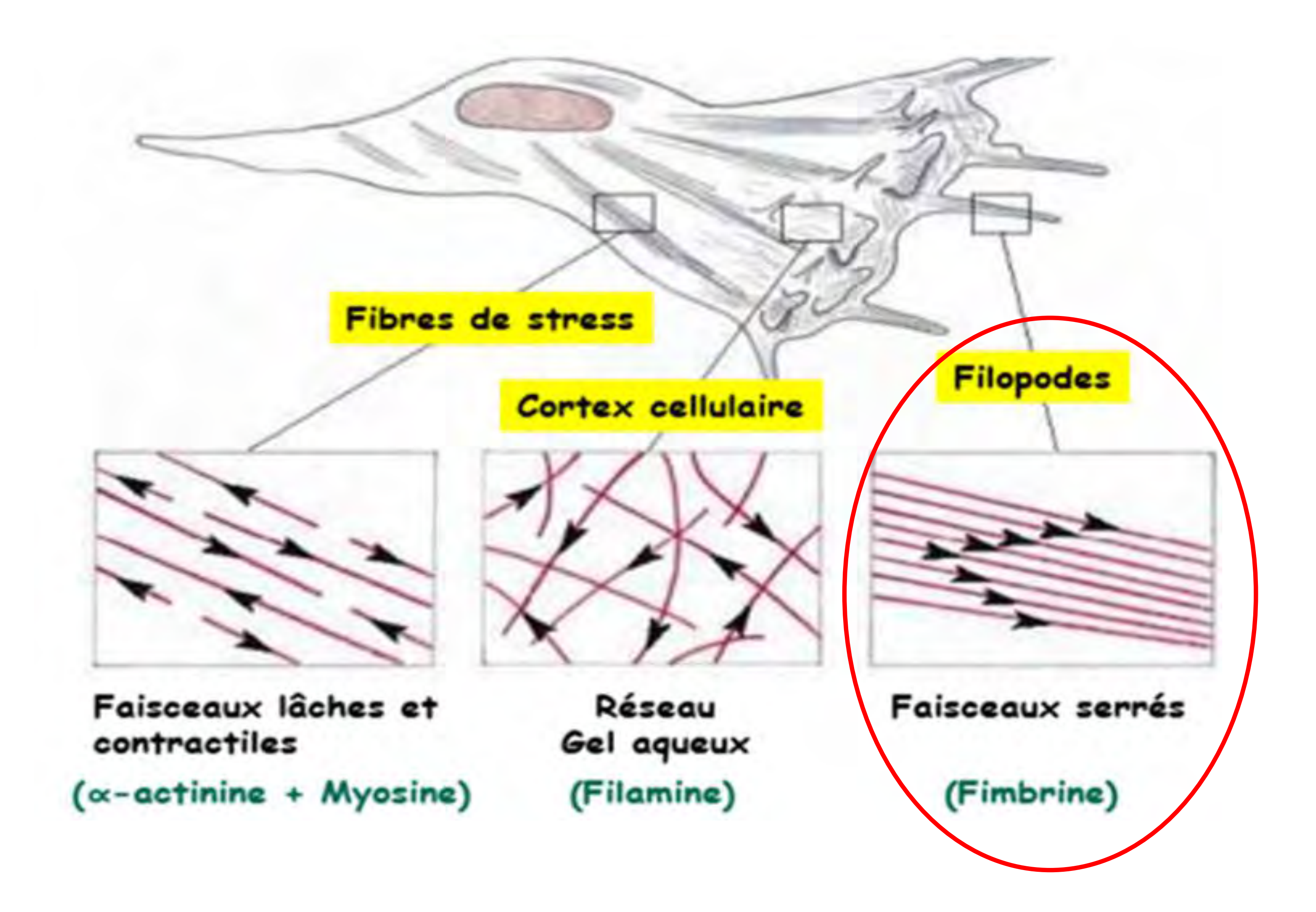


L'axe des microvillosités comporte d'autres protéines associées aux MFF (Cap Z) et à la membrane (myosine I)





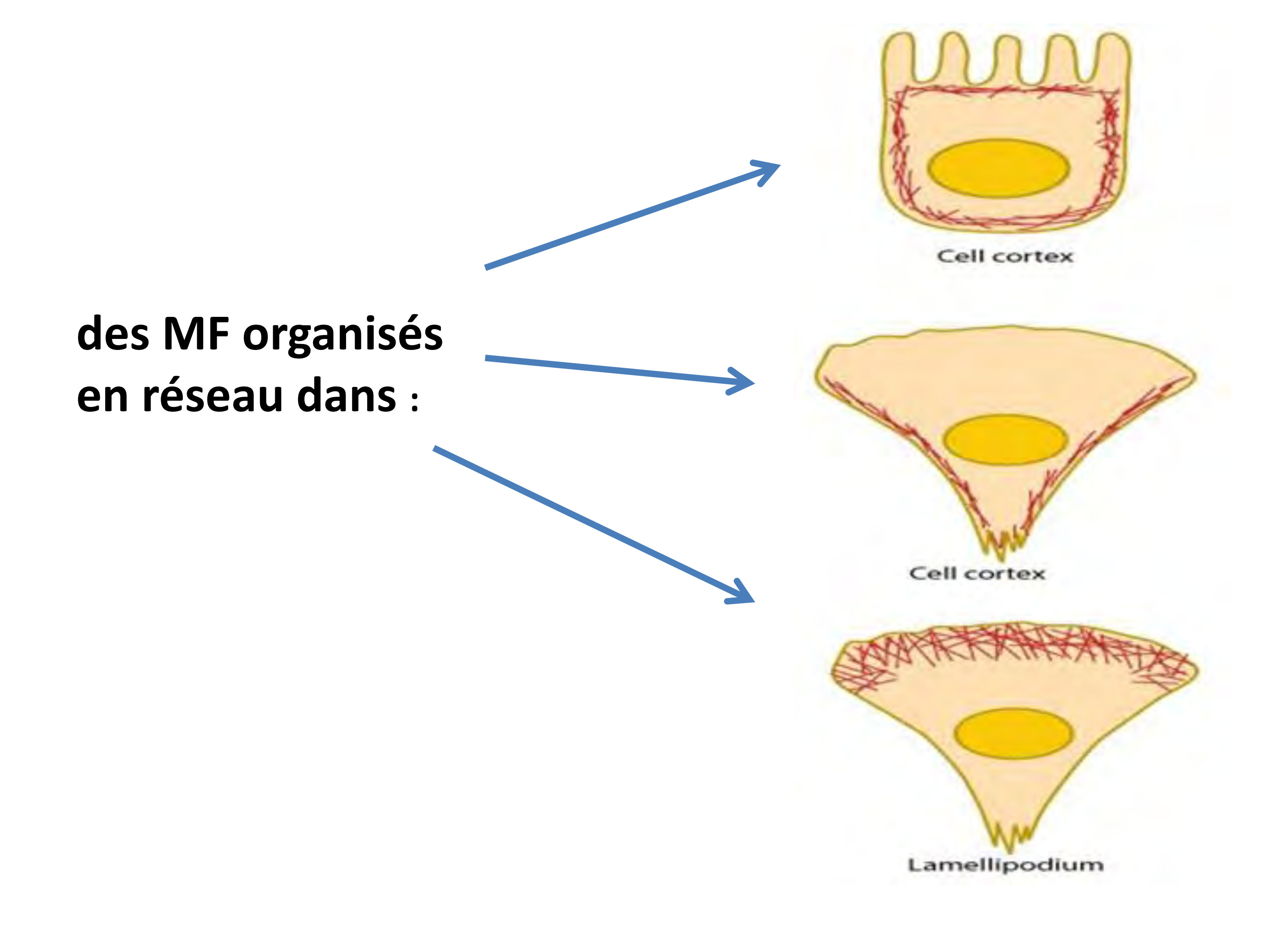
Organisation des MF d'actine en faisceaux serrés par la fimbrine dans les filopodes des cellules en déplacement

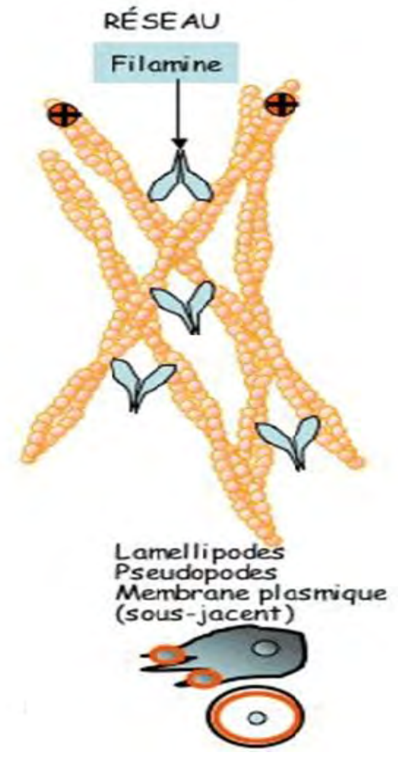


Protéines de réticulation (organisation des MF en réseaux)

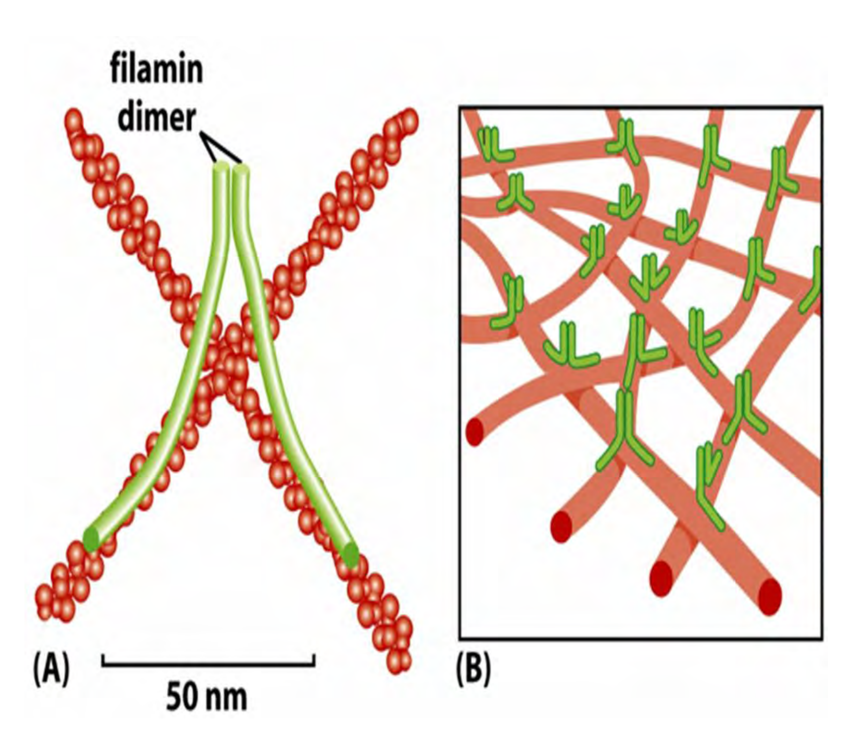
3 – Organisation des MF en réseaux

des MF organisés en réseau dans :

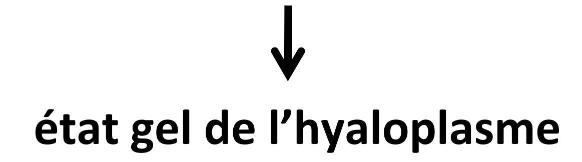




Intervention des dimères de filamine pour la formation du cortex



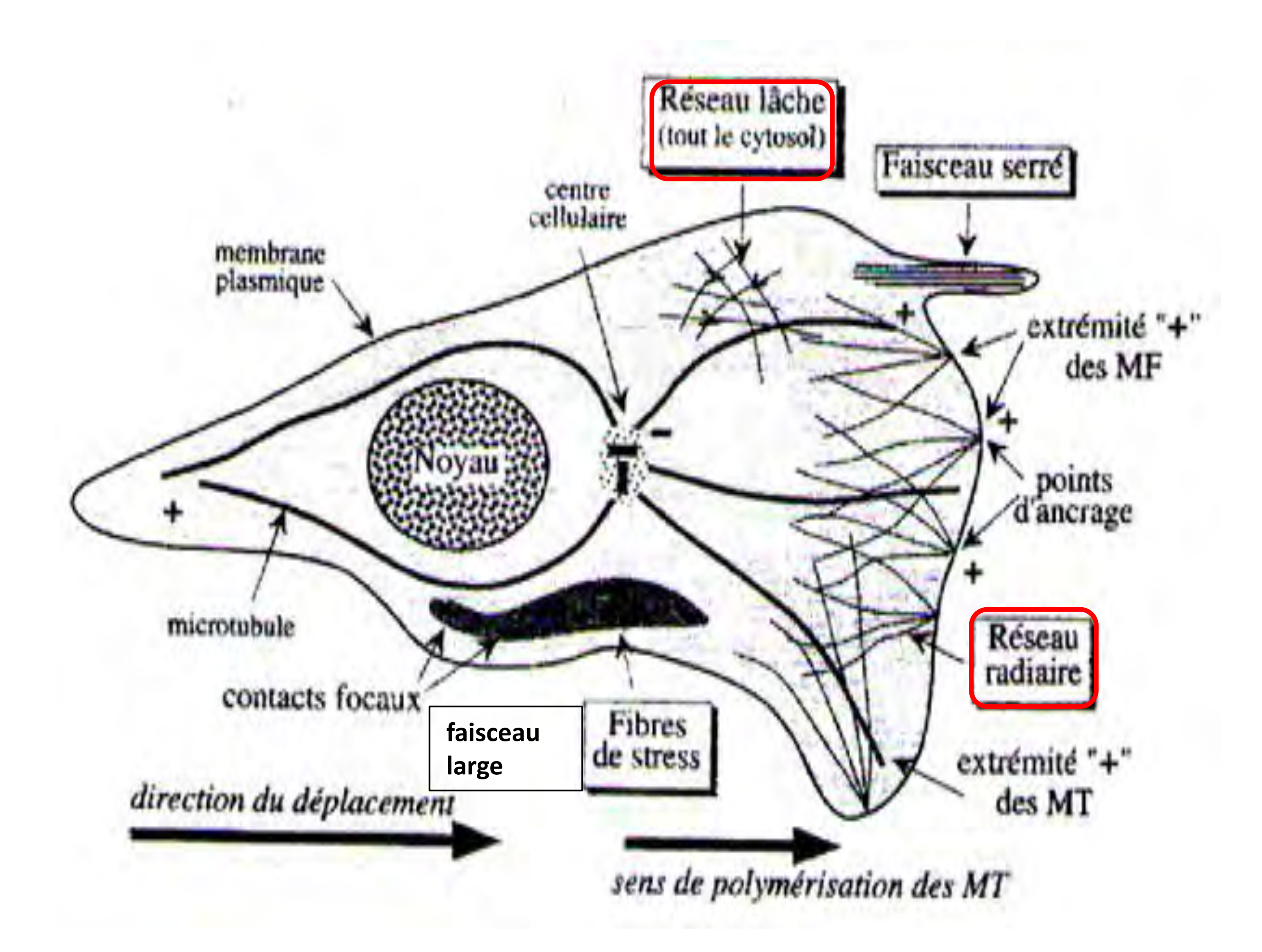
Réticulation des MF d'actine dans le fibroblaste par la filamine



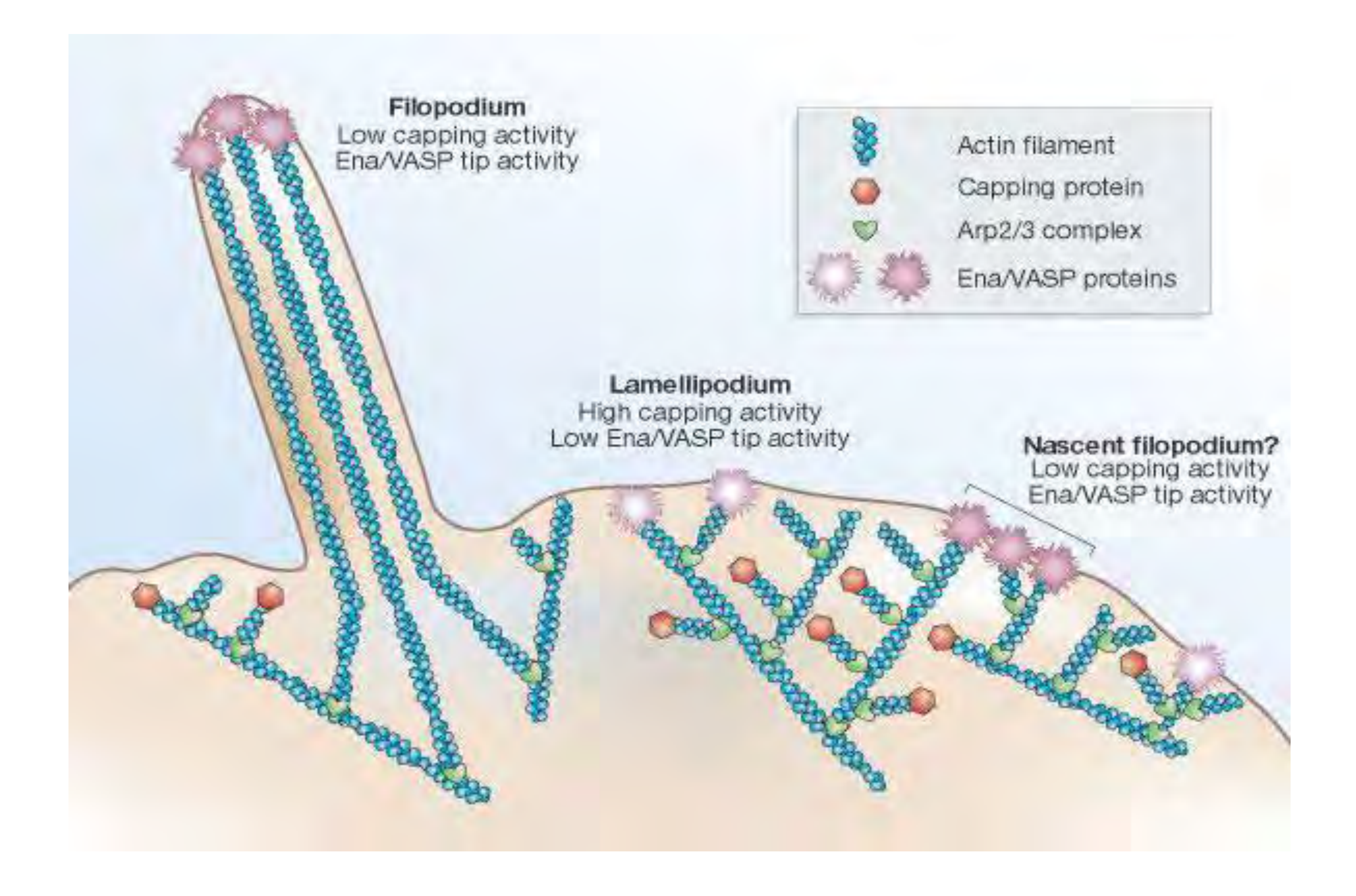
↓

état gel de l'hyaloplasme

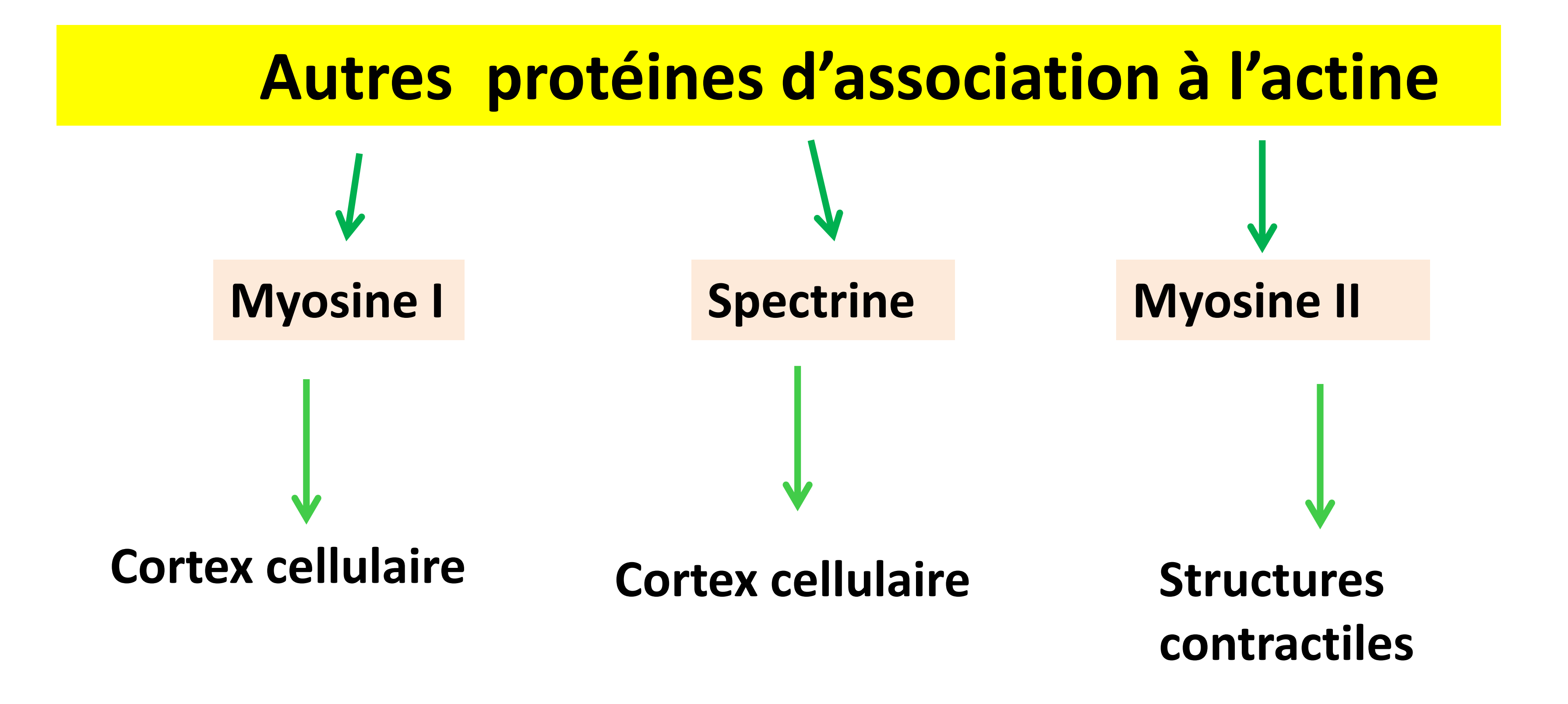
Les cellules en mouvements présentent plusieurs types d'organisation des MF



les MF d'actine dans les lamellipodes

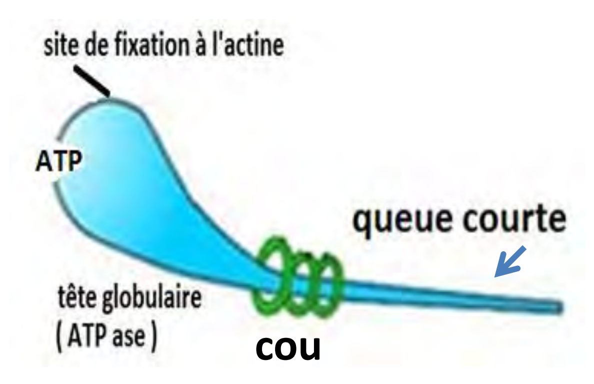


Protéines de contrôle du mouvement

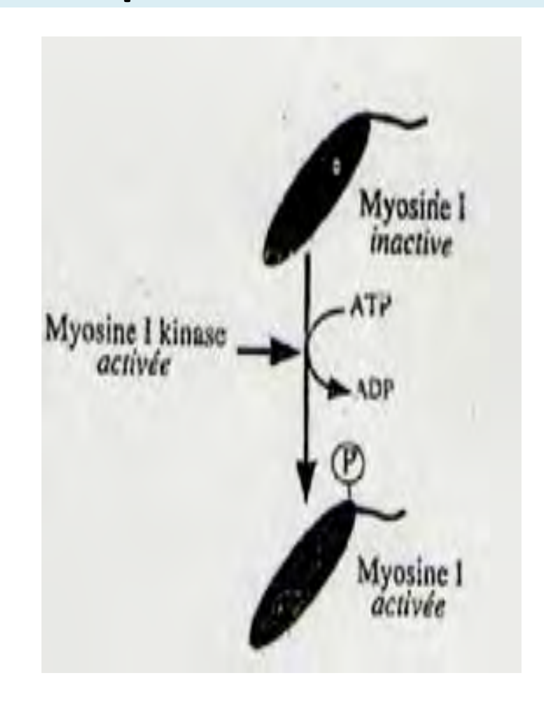

Autres protéines d'association à l'actine
Myosine I
Spectrine
Myosine II
Cortex cellulaire
Cortex cellulaire
Structures contractiles

La myosine I

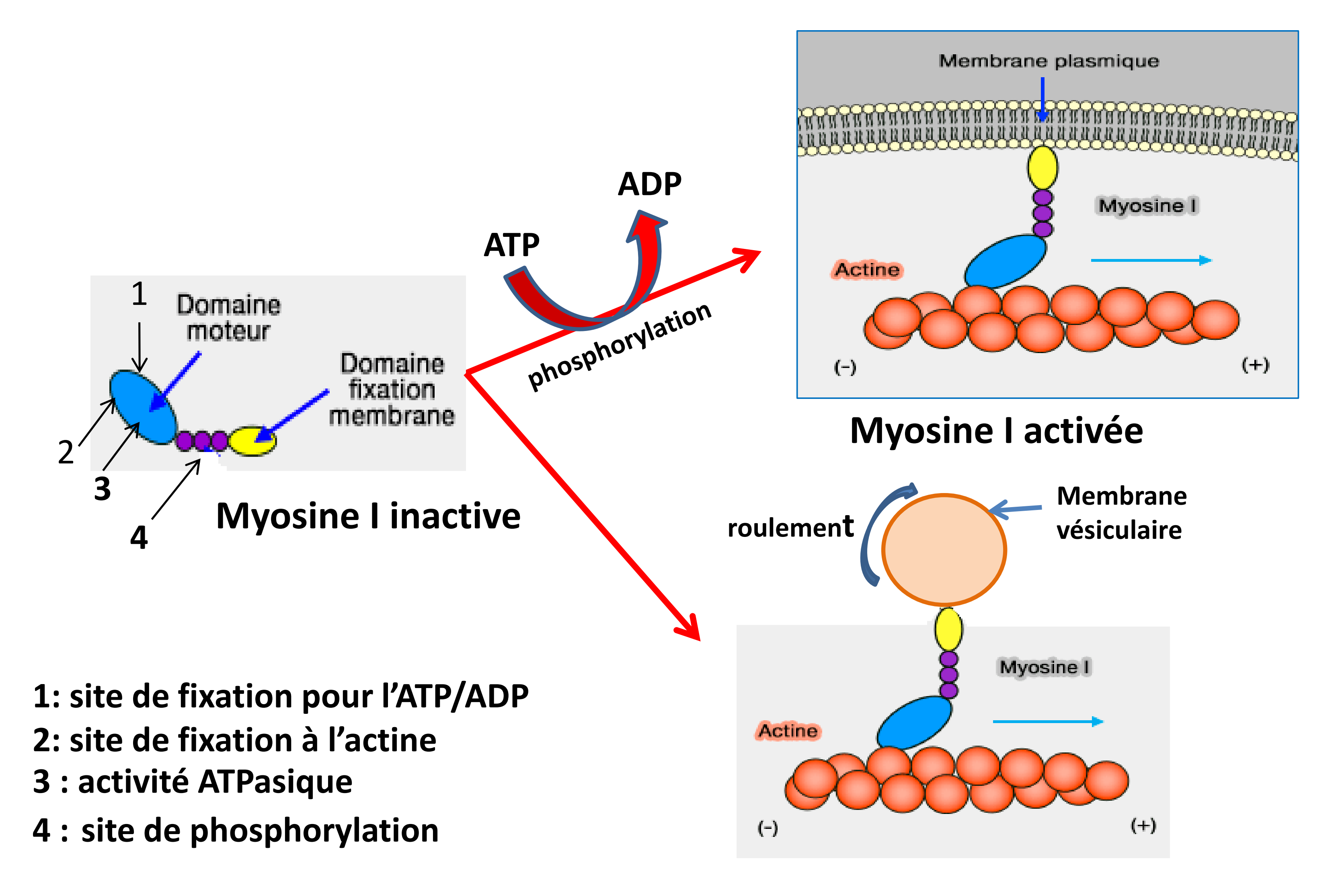
Structure de la myosine I (myosine courte)



La phosphorylation de la myosine I est indispensable à son activation



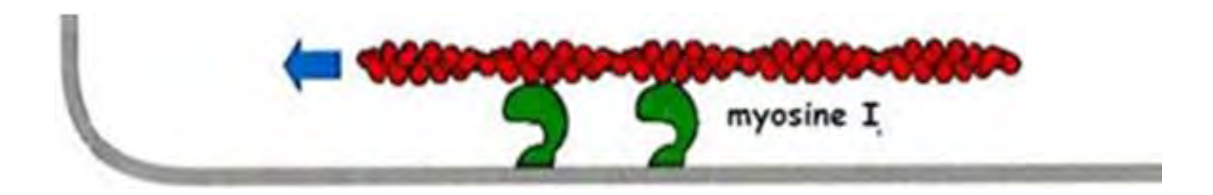
Organisation moléculaire et mécanisme d'activation de la myosine I



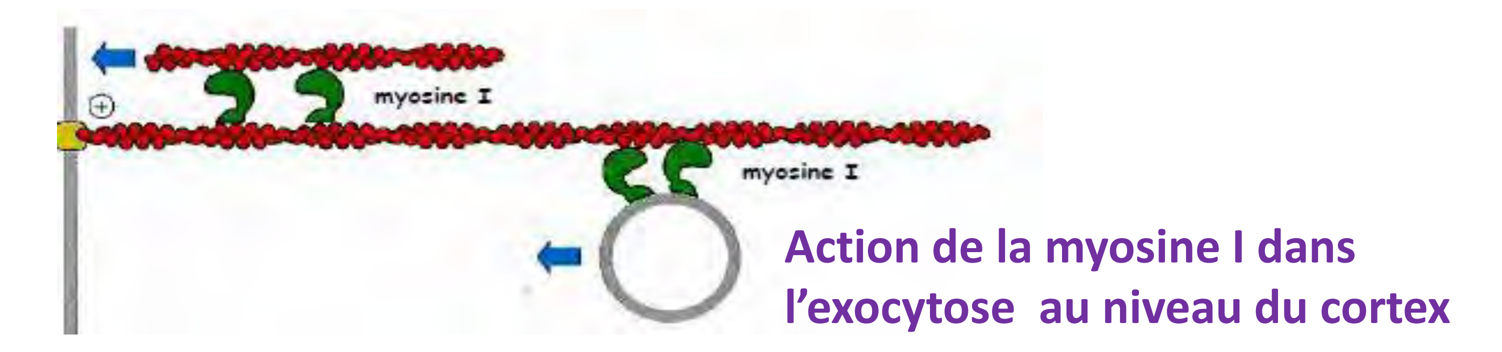
1: site de fixation pour l'ATP/ADP
2: site de fixation à l'actine
3 : activité ATPasique
4 : site de phosphorylation

Les filaments d'actomyosine formés par la myosine I

Les myosine I réalise L'interaction membrane-cytosquelette d'actine

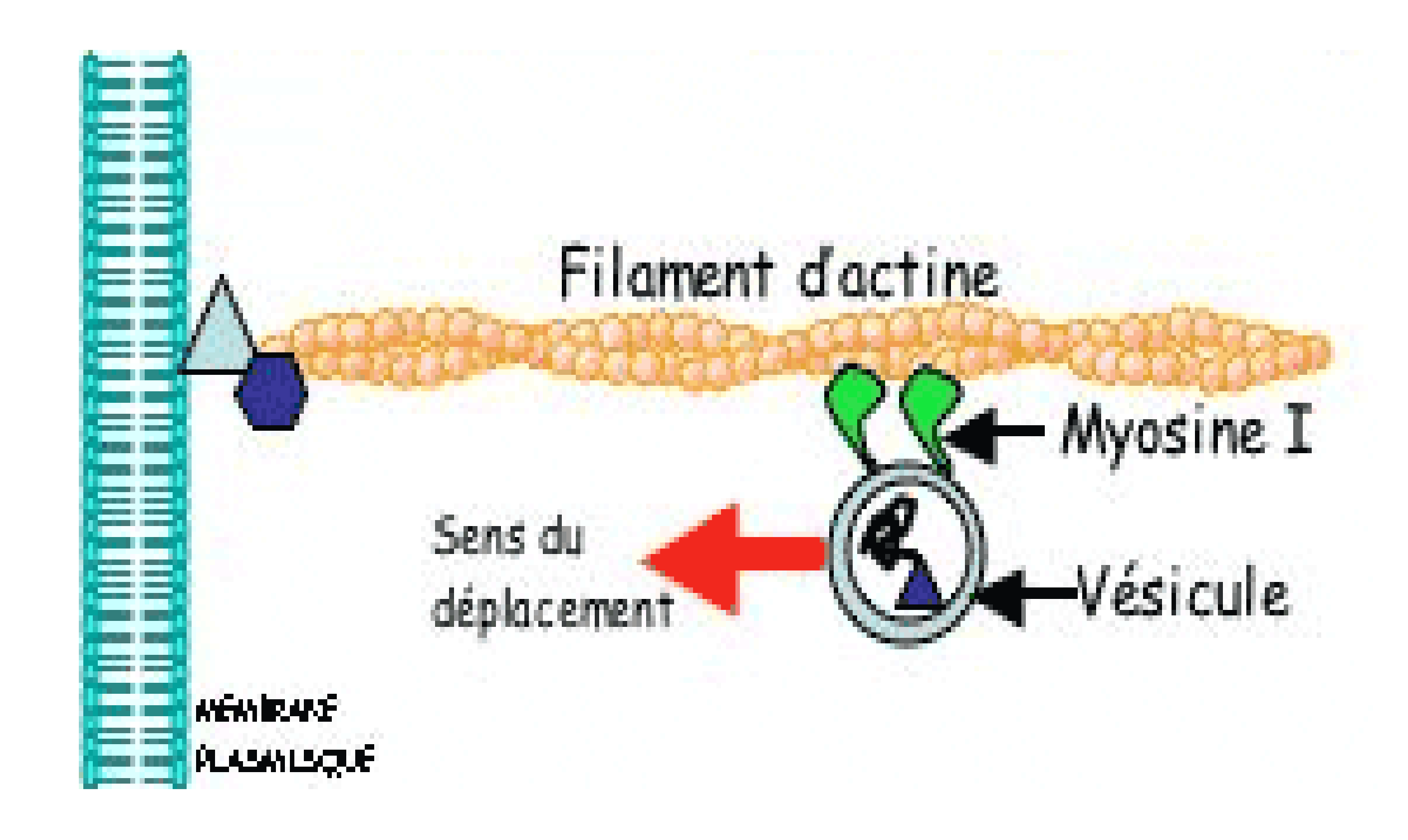


Les myosine I déplacent des vésicules ou des éléments du cytosquelette dans la région sous membranaire



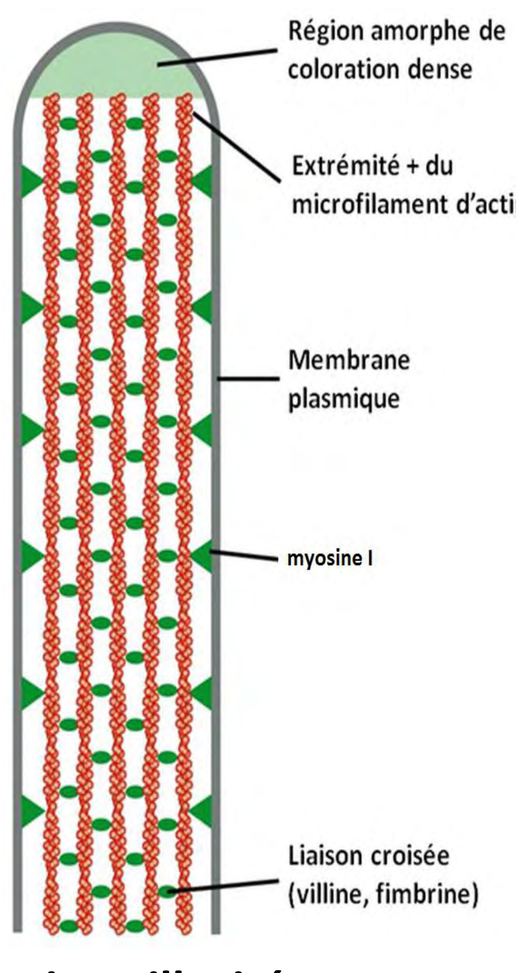
Action de la myosine I dans l'exocytose au niveau du cortex

Pour le transport vésiculaire , la myosine I se déplace sur le MFF d'actine de l'extrémité (-) vers l'extrémité (+) par des cycles de phosphorylation de la tête pour s'attacher à l'actine

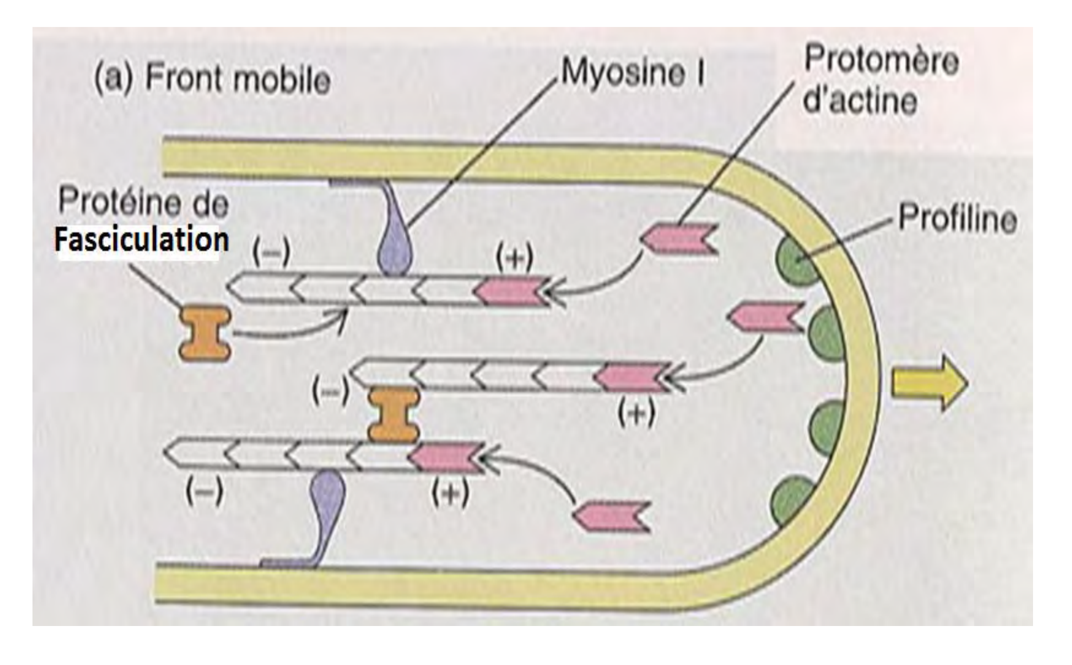


Contrôle d’ancrage à la membrane plasmique

Intervention de la myosine I pour la formation (structuration) des microvillosités et des filopodes



microvillosité



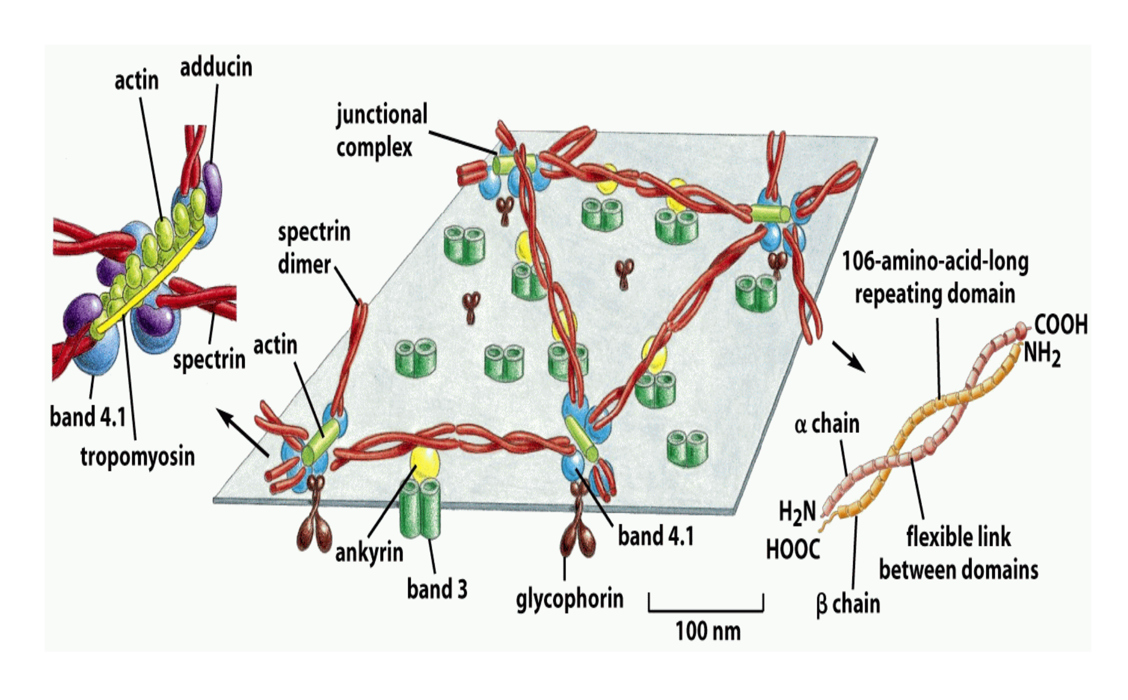
filopodes

Association de "la spectrine" aux MF d'actine dans le GR

la spéctrine est responsable
de la morphologie des GR

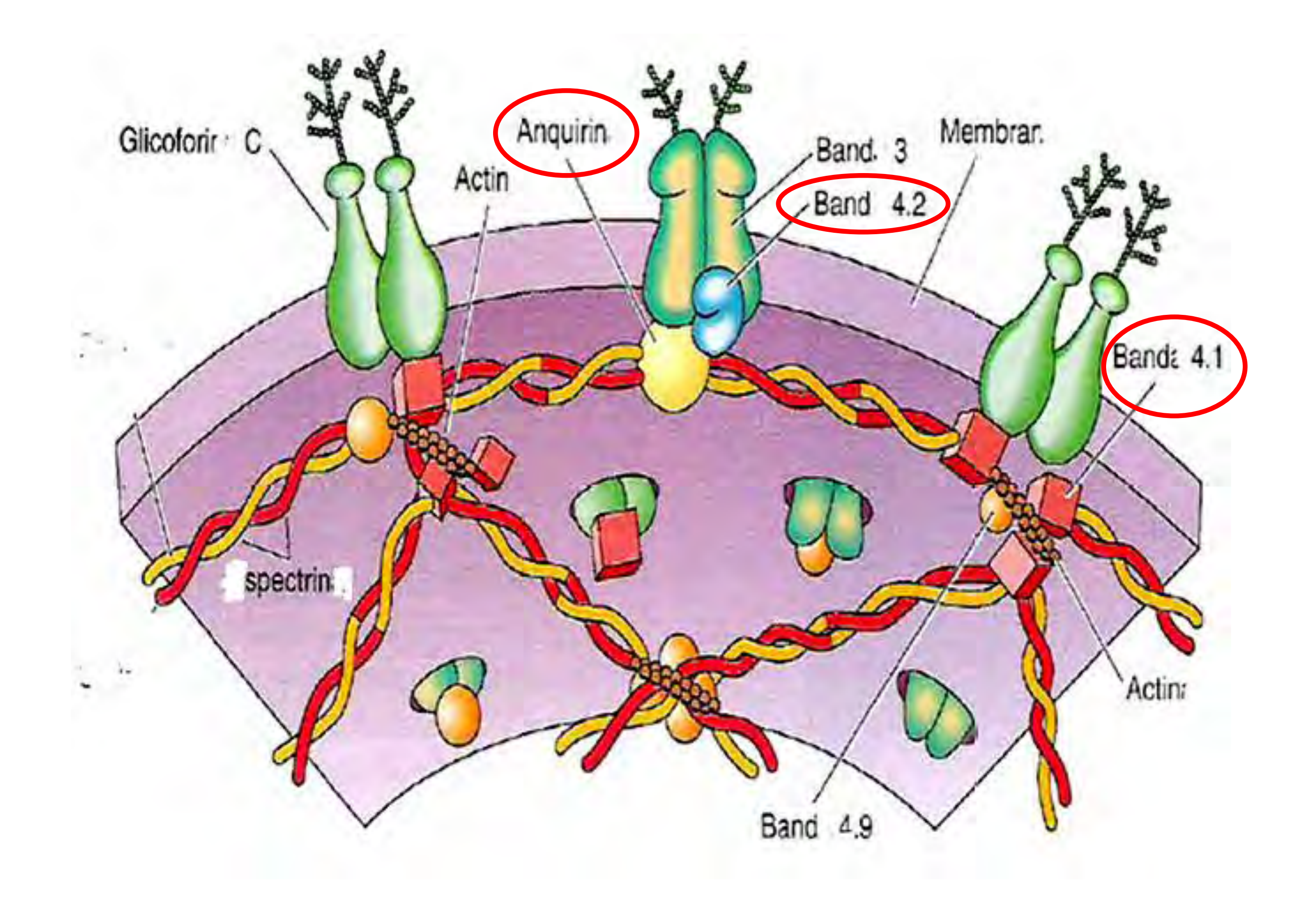


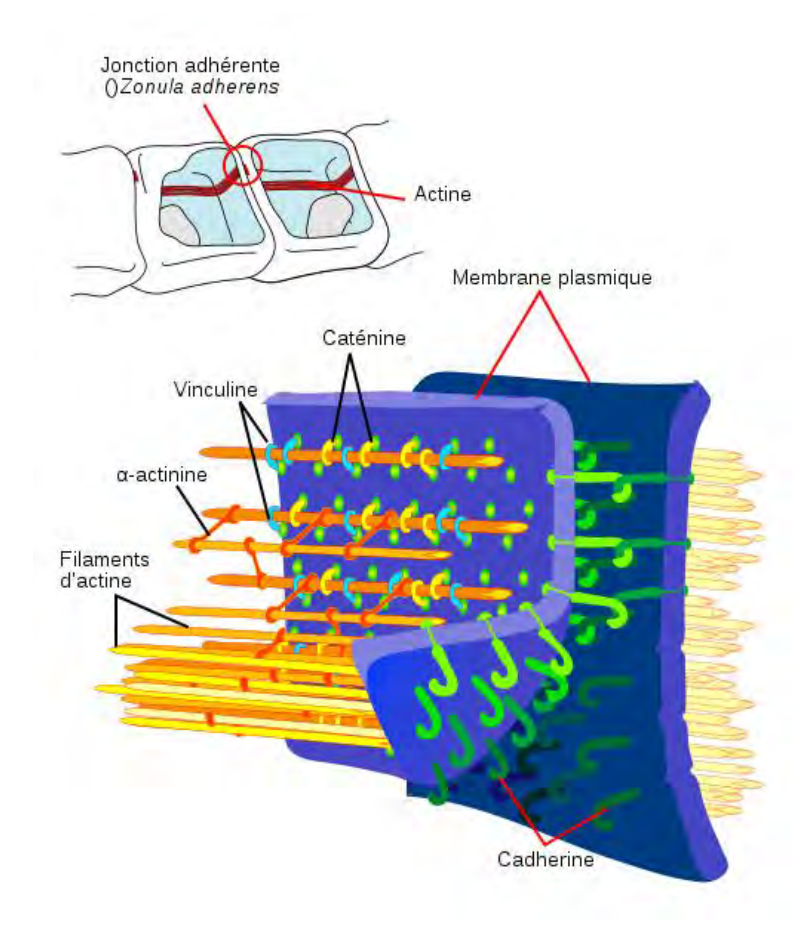
Forme biconcave des GR contrôlée par la spectrine



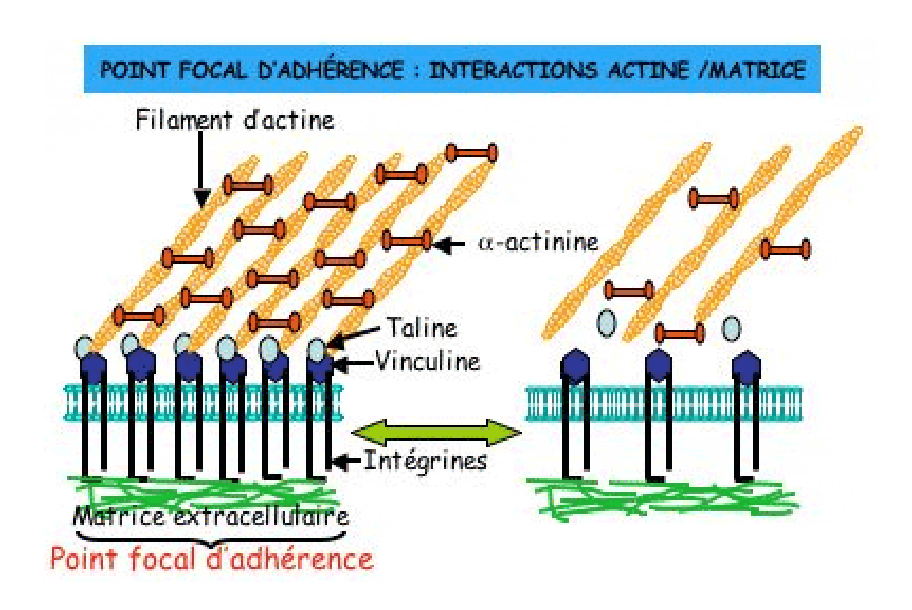
Elle s'associe aux MF du cortex sous membranaire par une extrémité et à des protéines de la membrane plasmique par l'autre

D’autres protéines (bande 4, ankyrine) d’ancrage des MF à la membrane plasmique des hématies





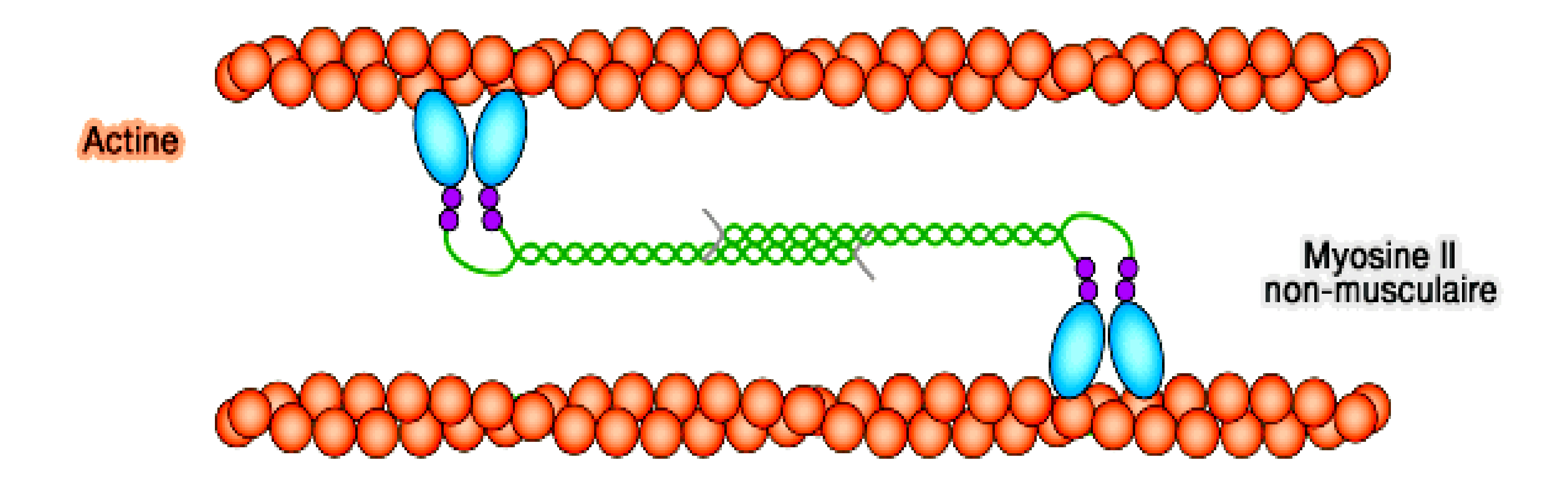
Ancrage des MF à la membrane plasmique par les caténines dans les cellules épithéliales



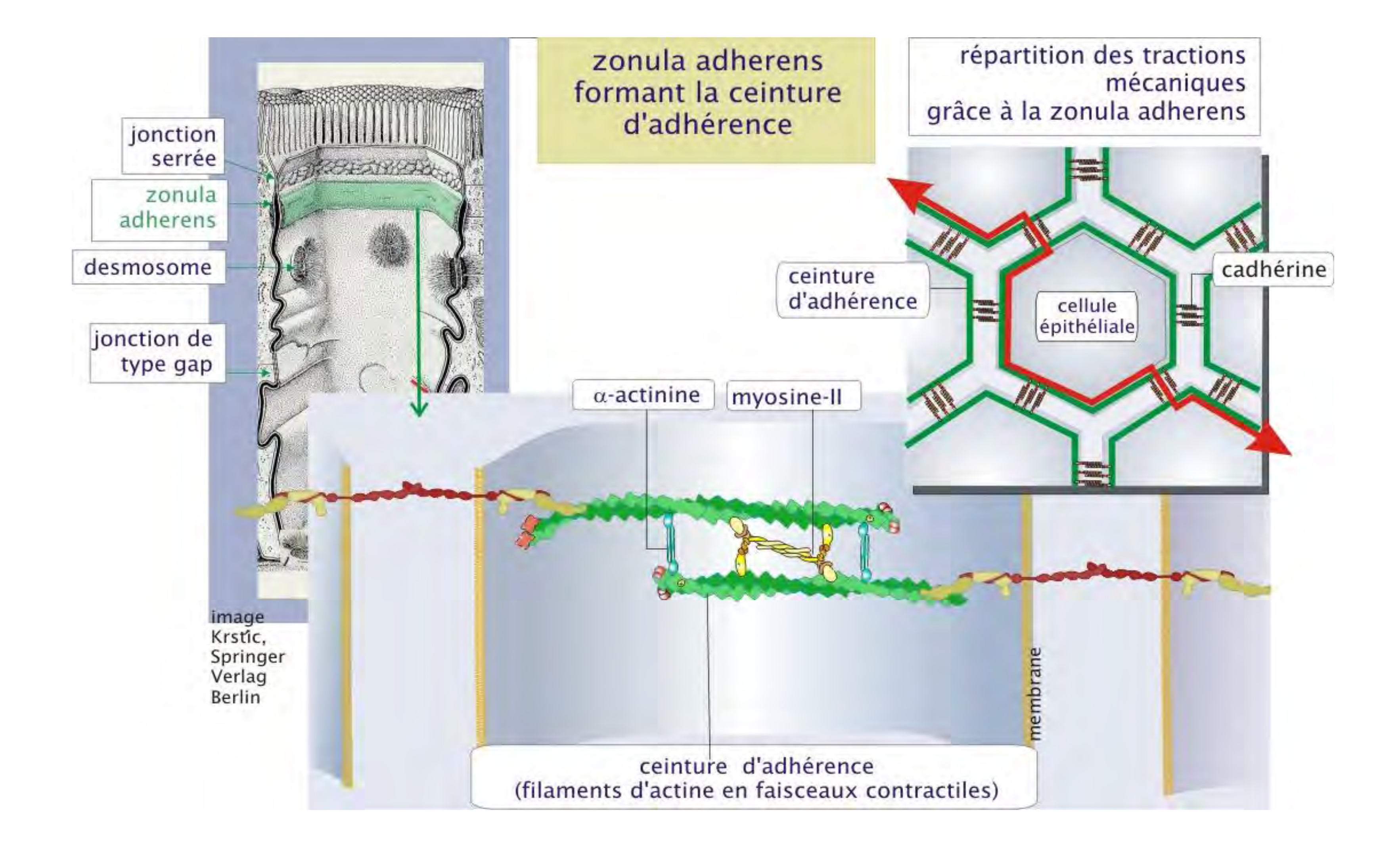
Ancrage des MF à la membrane plasmique par la talline et vinculine dans les cellules en migration

Contraction

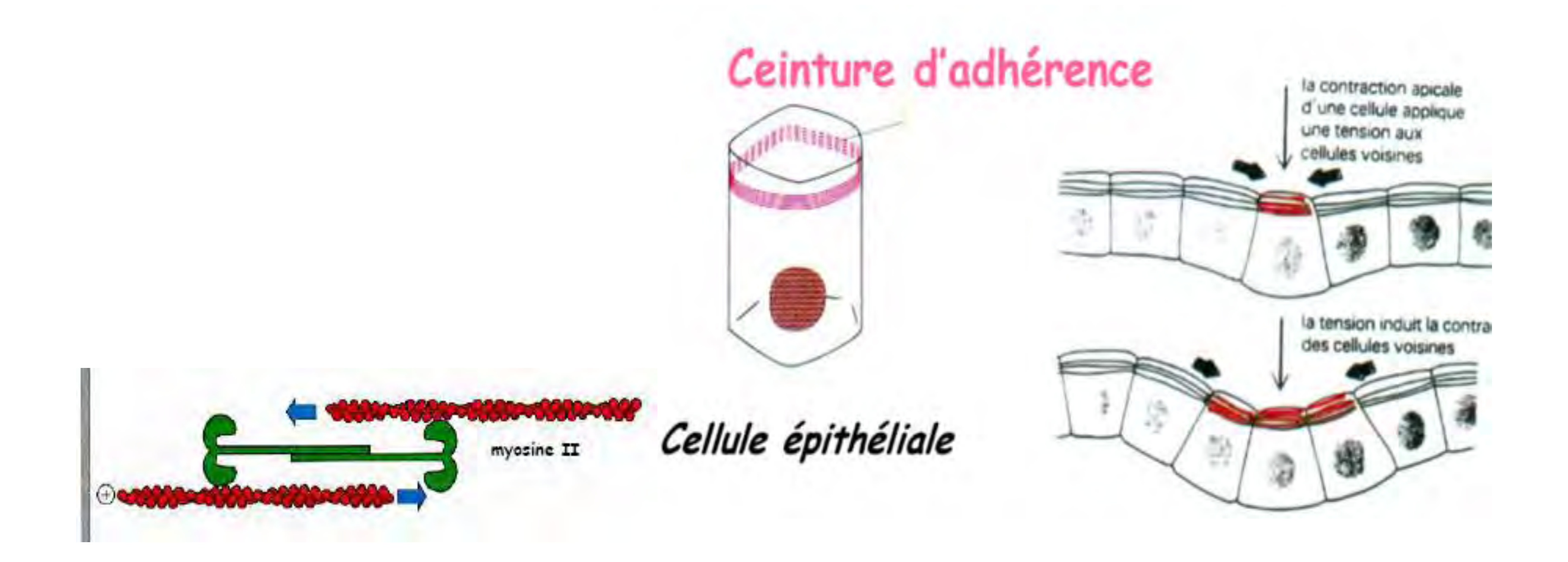
L'interaction de quelques molécules de myosine II avec des MFF en faisceaux caractéristique des structures contractiles



Intervention de la myosine II dans les contractions de la ceinture d'adhérence

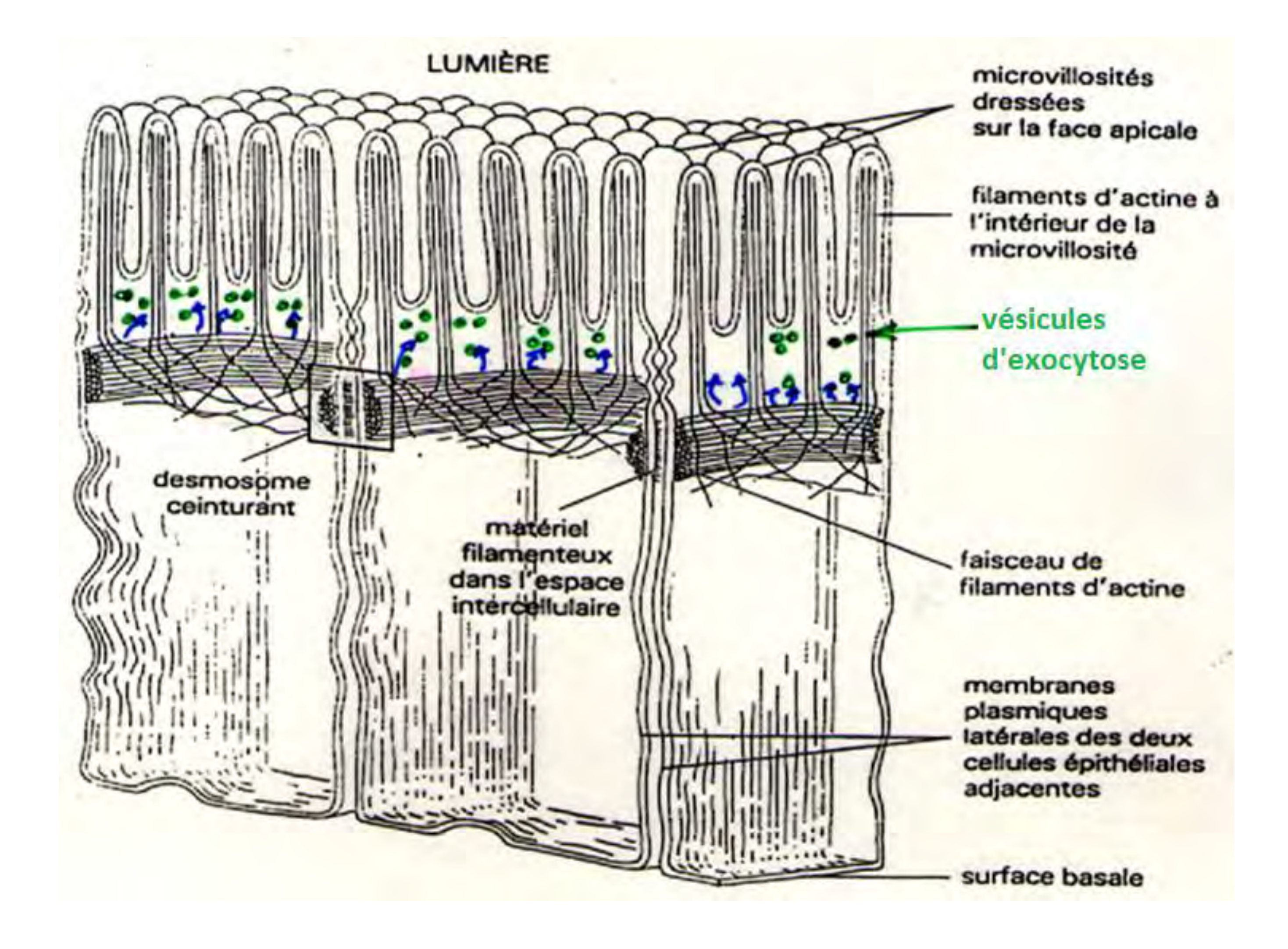


Effet de la contraction des MF de la Zonula adherens

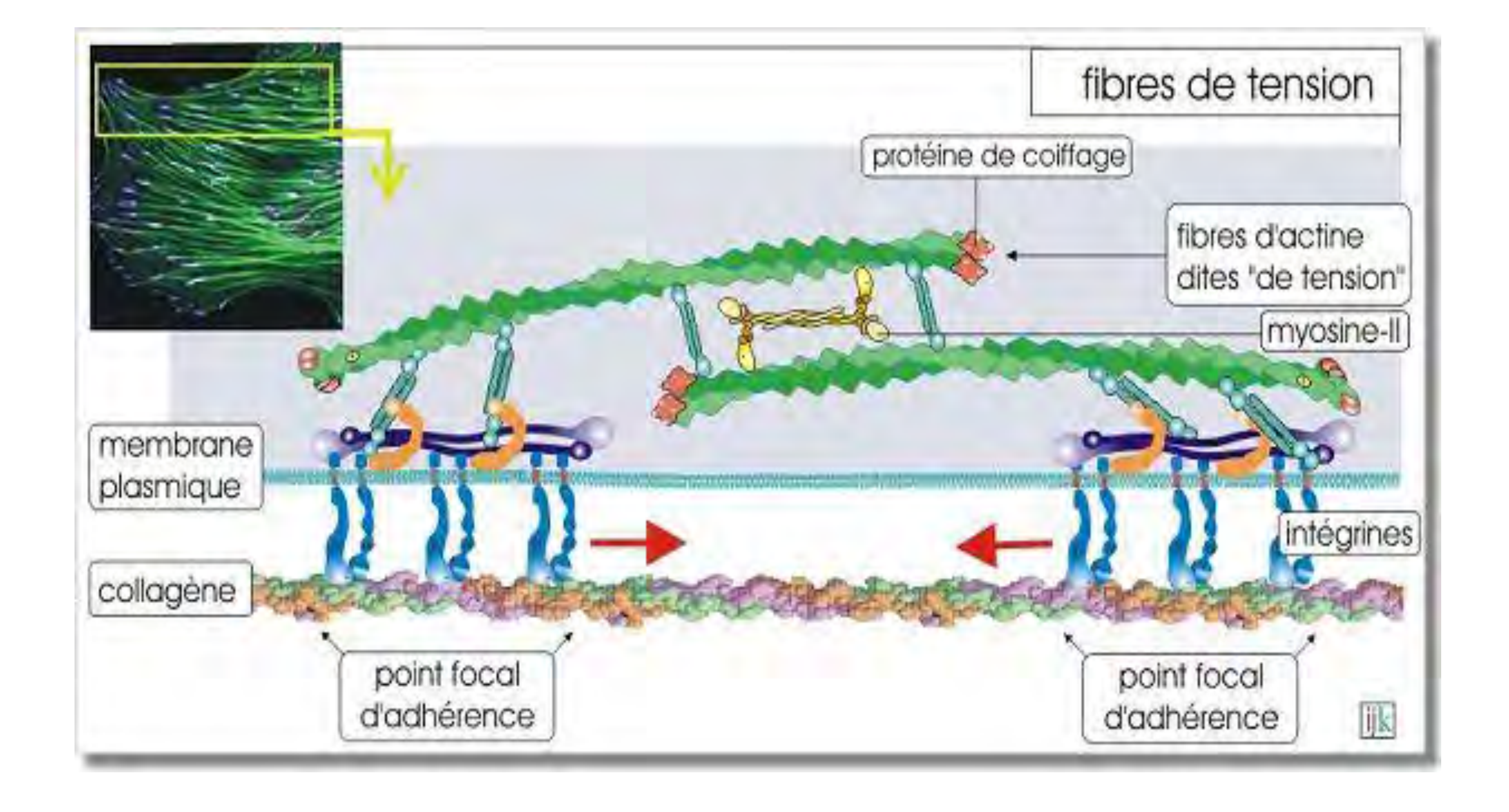


Interactions contractiles entre myosine II et MF d'actine pour l'étranglement du pôle apical

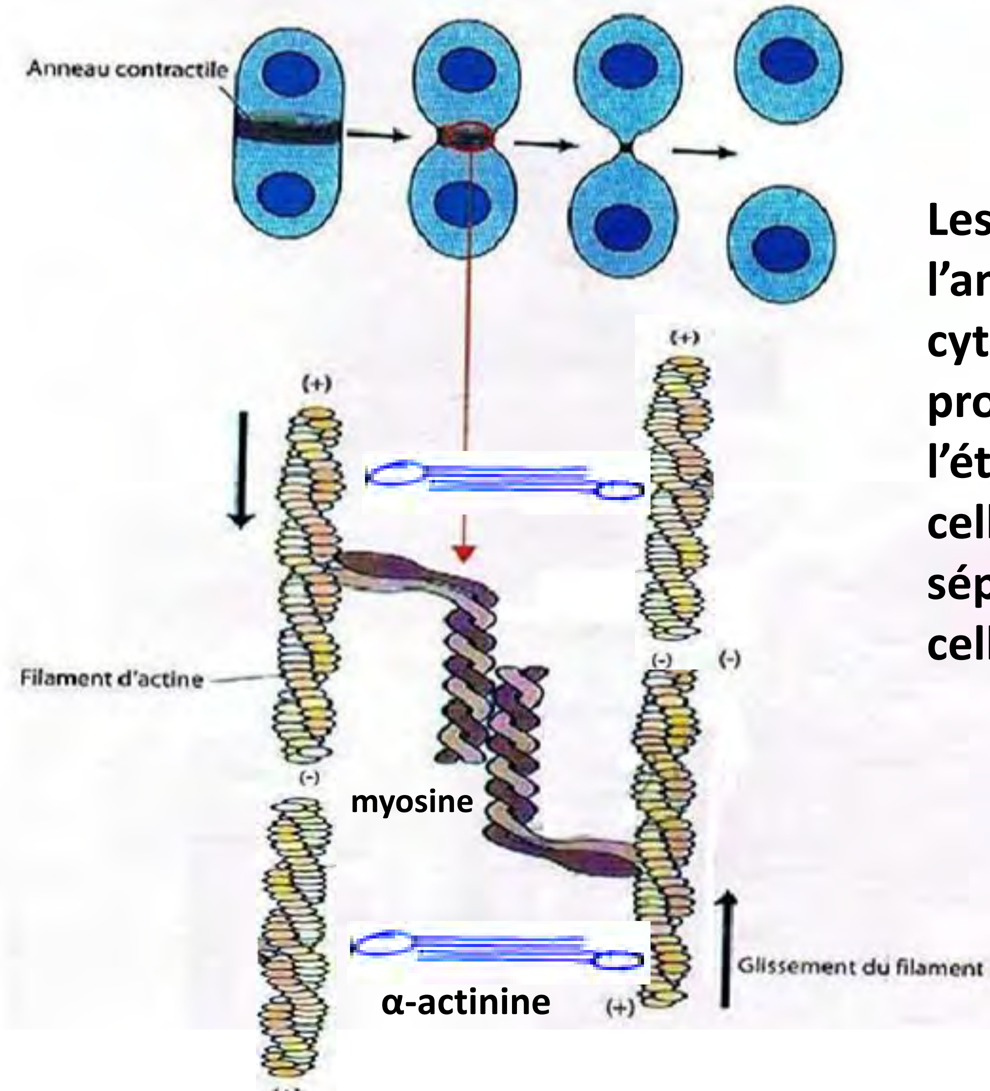
Synchronisation de l’’exocytose par les contractions de Zonula adherens



Implication de la myosine II dans les contractions des fibres de stress (visibles pendant le mouvement) pour le déplacement amiboïde des cellules

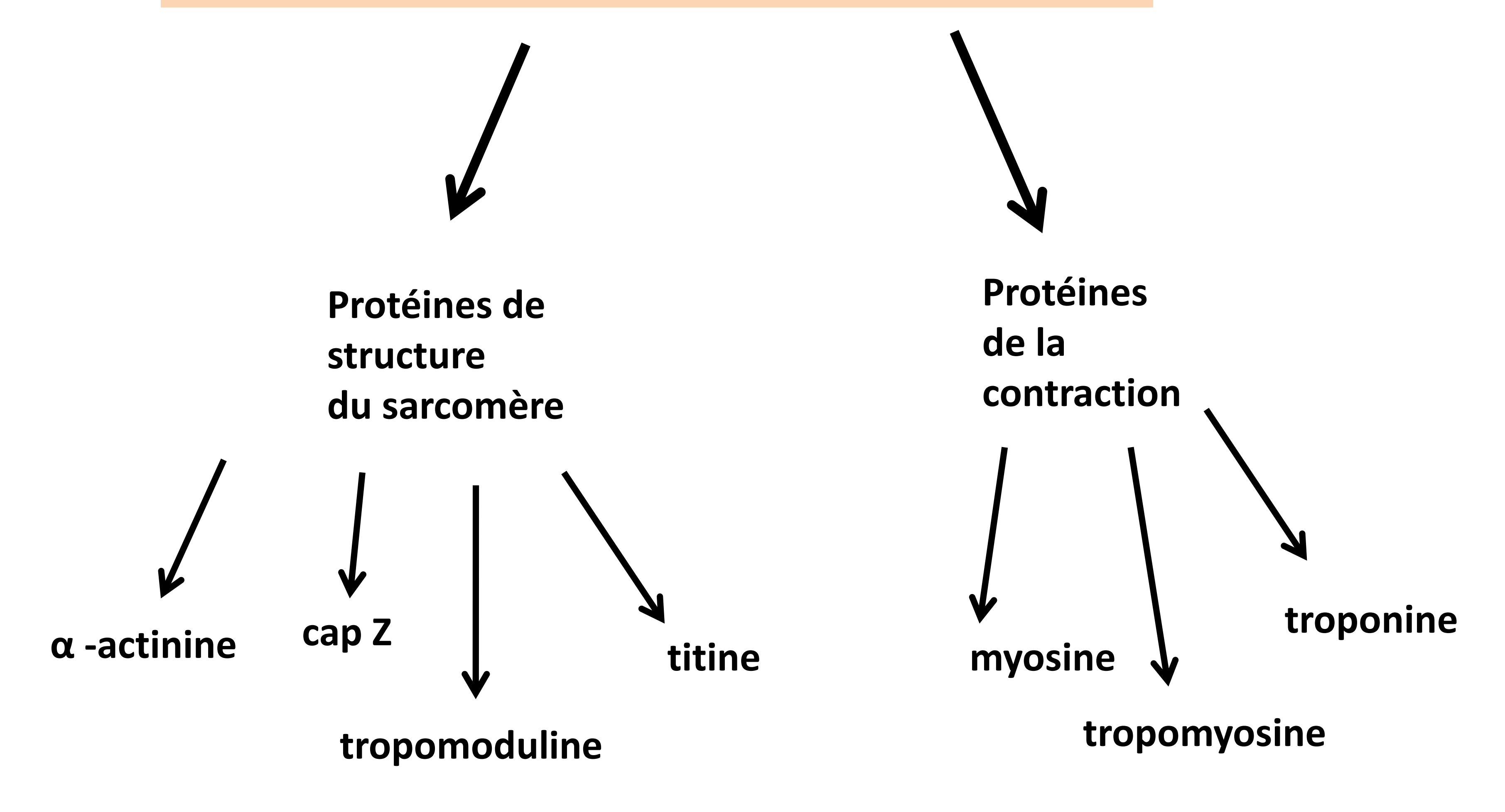


Intervention de la myosine II dans les contractions de la cytodiérese



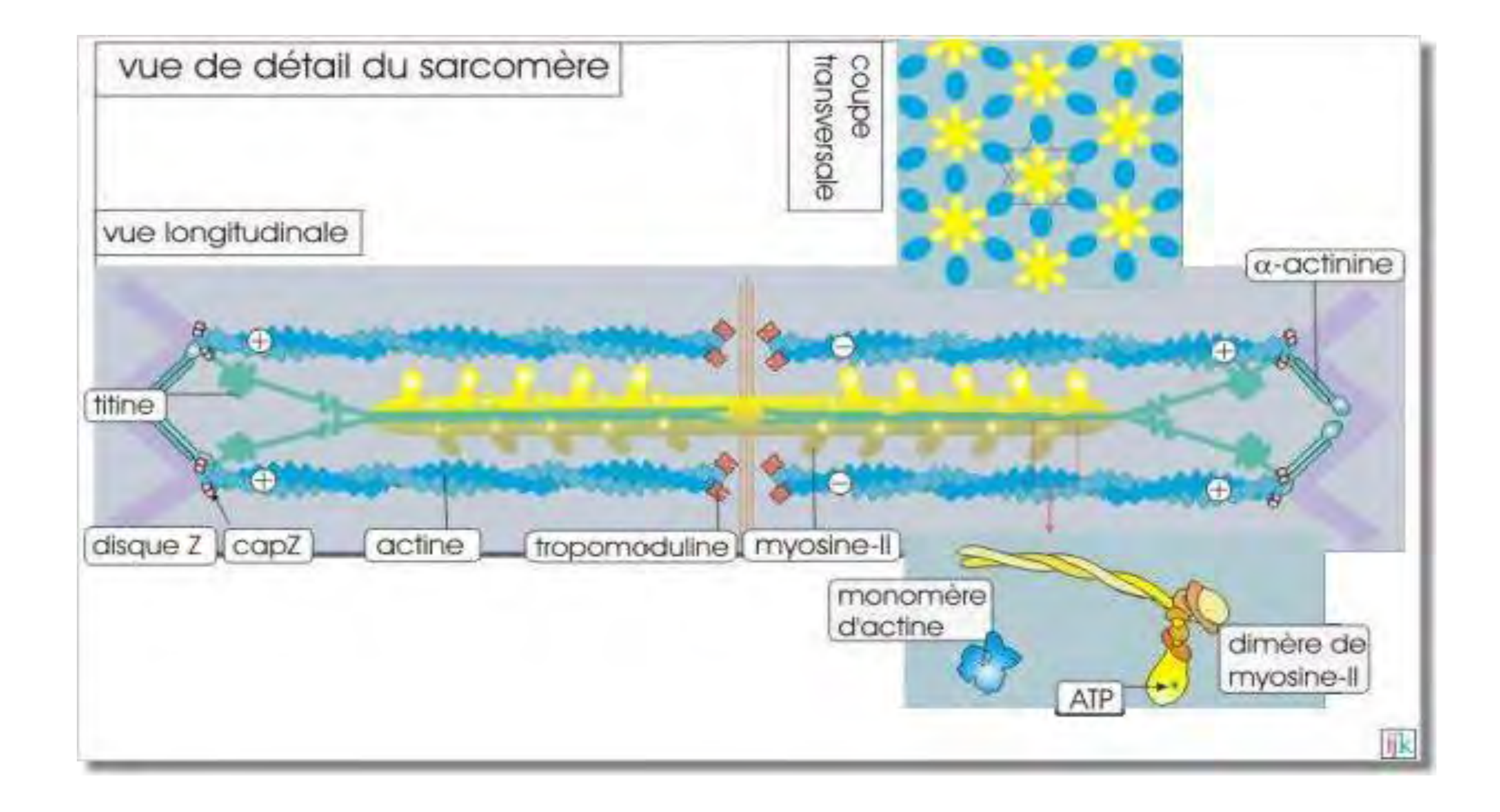
Les contraction de l'anneau de cytodiérèse provoque l'étranglement de la cellule mère et sa séparation en 2 cellules filles

Protéines associées à l’actine dans les cellules musculaires

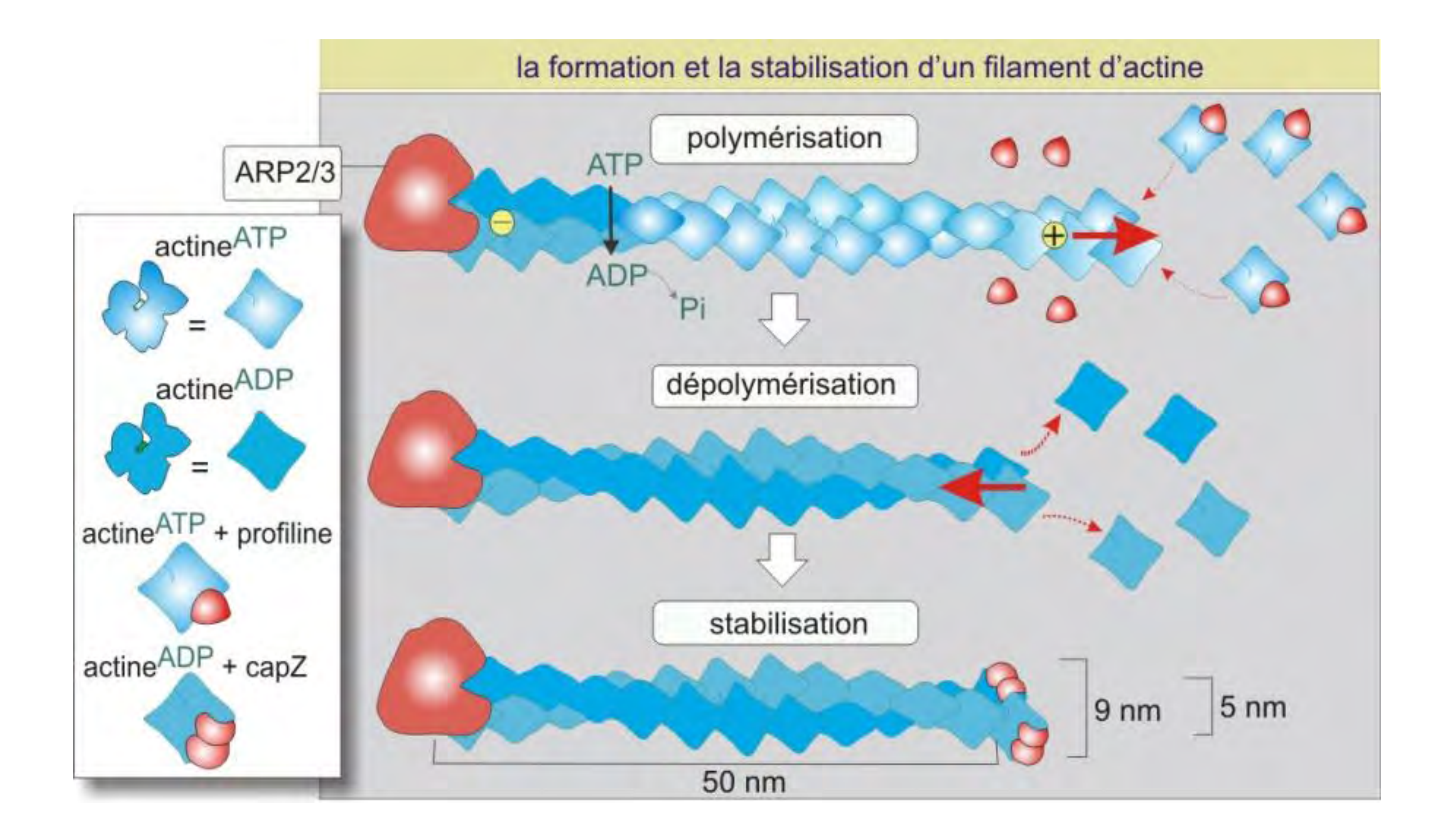

Protéines associées dans la cellule musculaire
Protéines de structure du sarcomère
Protéines de la contraction
α -actinine
cap Z
tropomoduline
titine
myosine
tropomyosine
troponine

Protéines du capping

La protéine Cap Z coiffe l'extrémité (+) des filaments d'actine au niveau de la strie Z pour stabiliser leur longueur

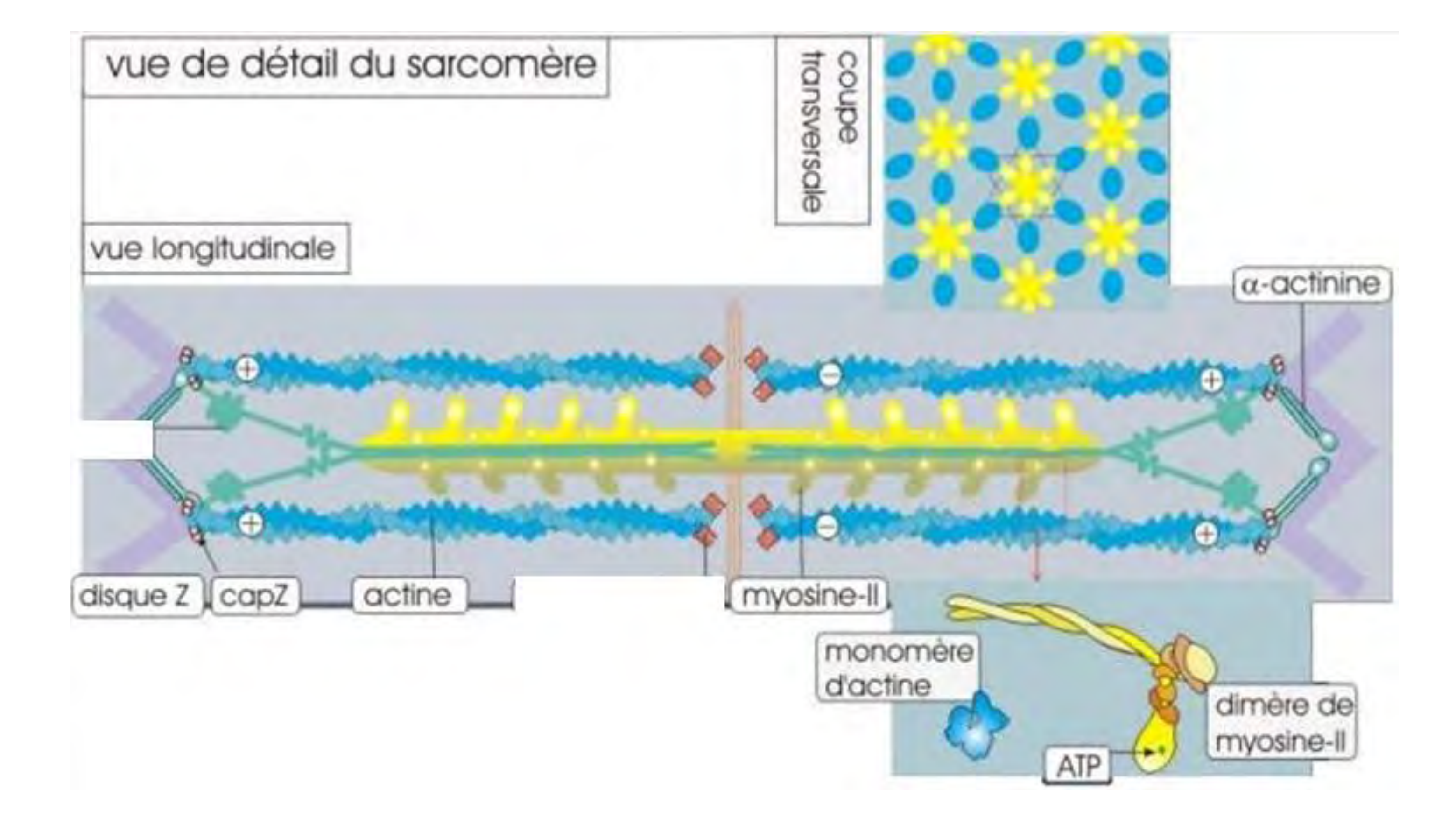


En Coiffant l'extrémité (+) du filament d'actine la Cap Z stoppe la polymérisation

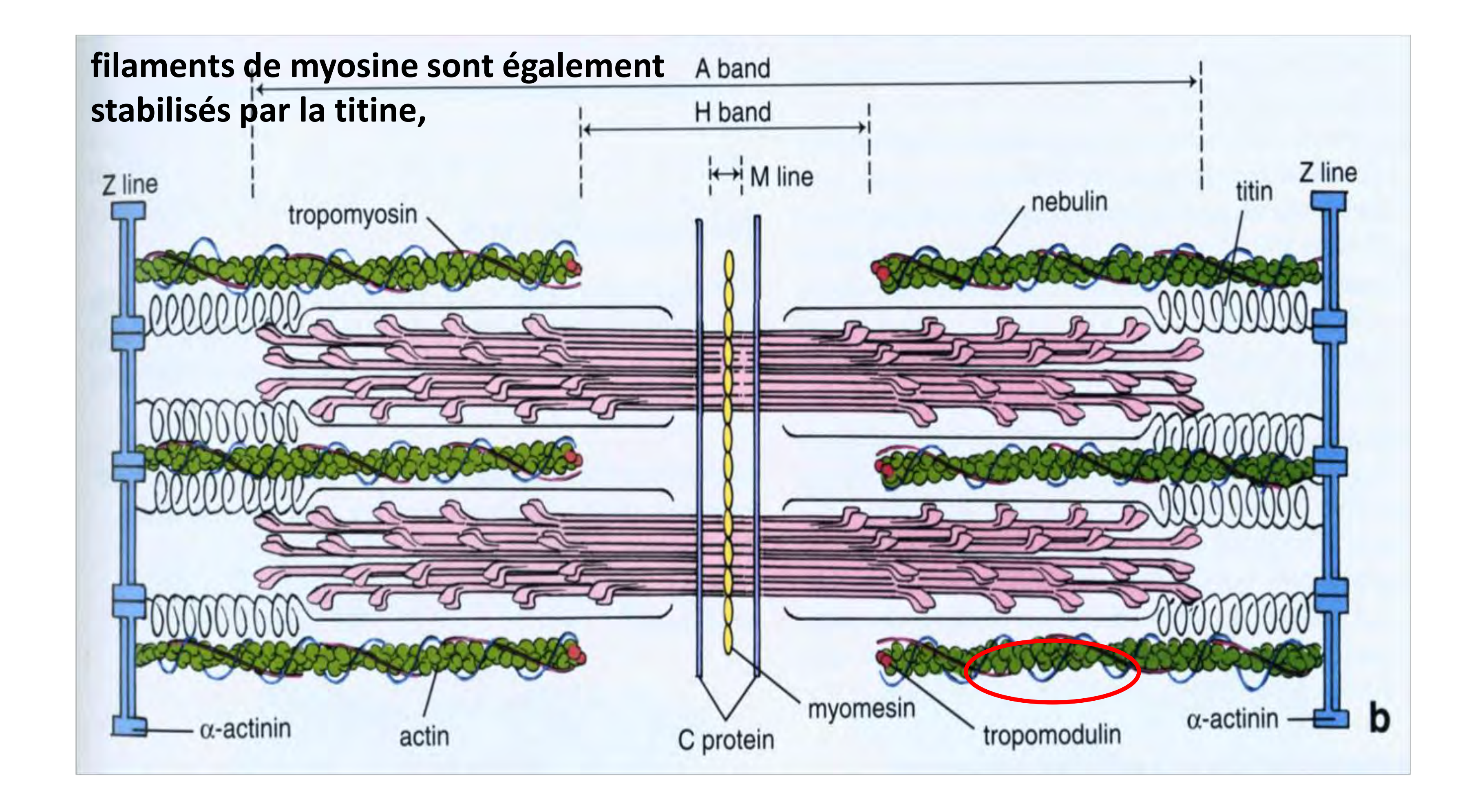


Protéines du pontage des faisceaux d’actine

α-actinine: organise et ponte les filaments d'actine des sarcomères voisins dans les cellules musculaires

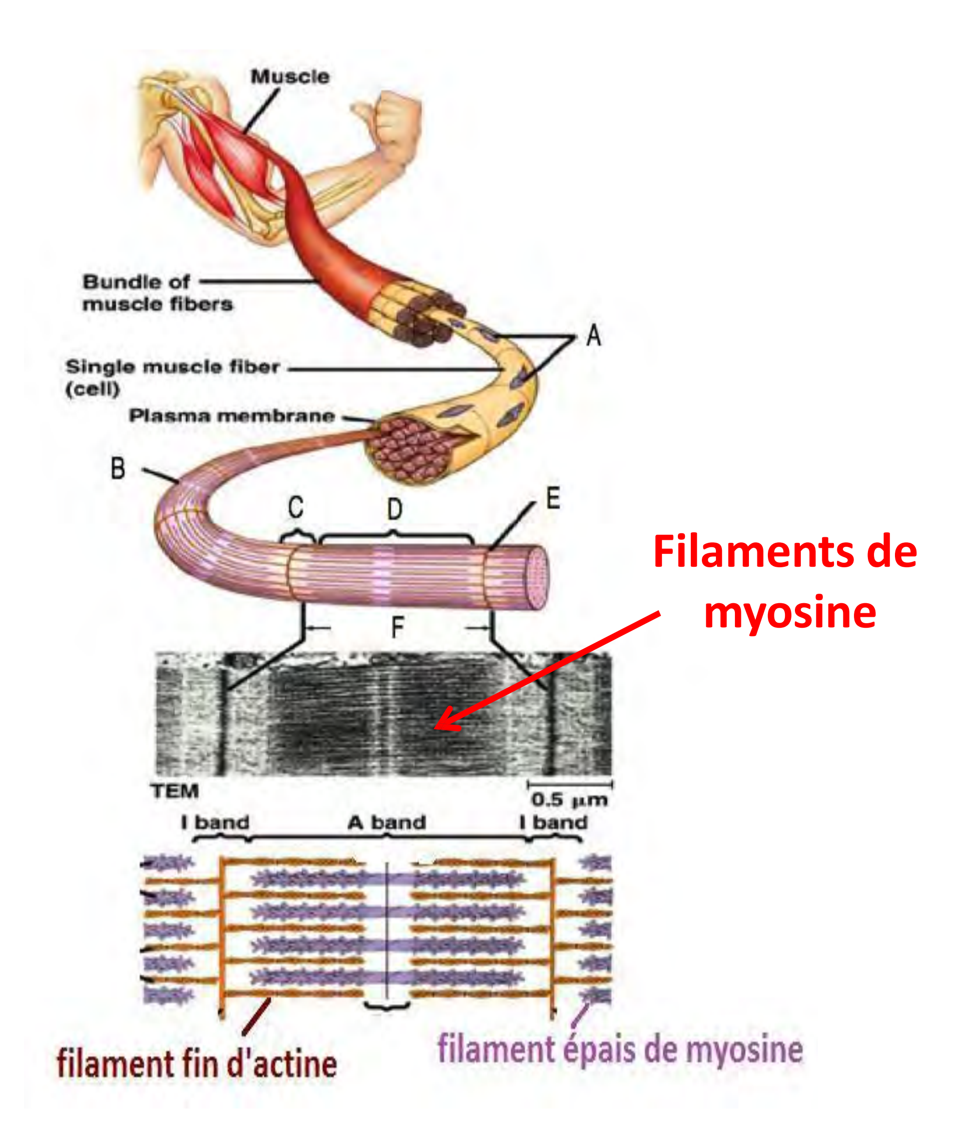


La tropomoduline : stabilise les filaments d'actine et la titine stabilise les filaments de myosine



Protéines de la contraction

Association des filaments de myosine II avec ceux d'actine dans la cellule musculaire



Filaments de myosine

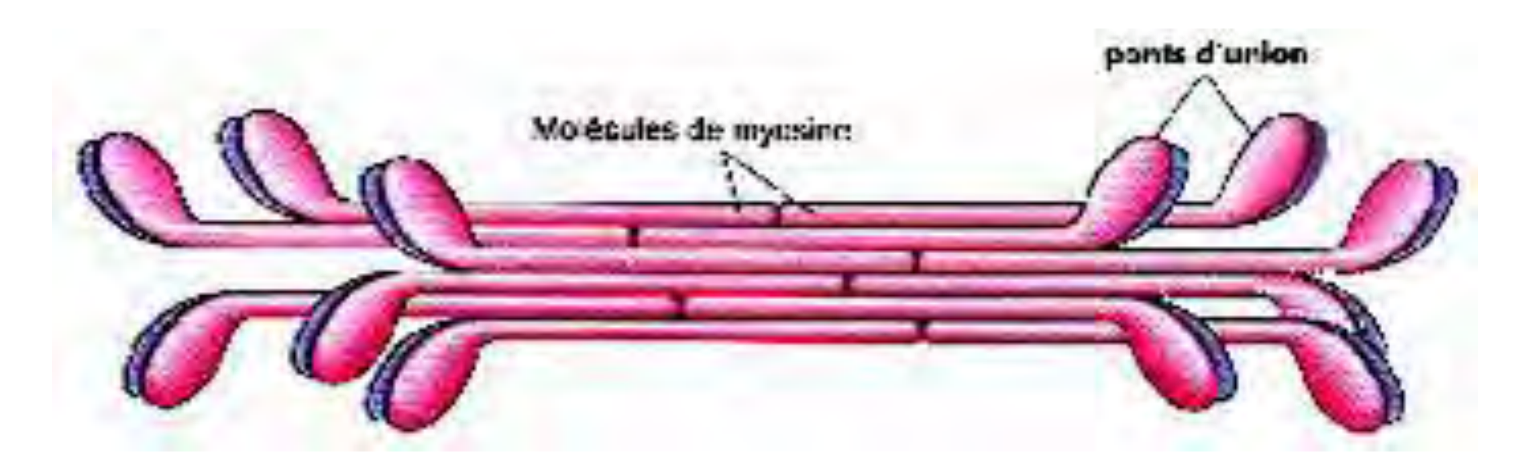
Localisation cellulaire : associés aux MF d'actine, ils forment les bandes A (stries A) du sarcomère

Les filaments épais bipolaires de myosine

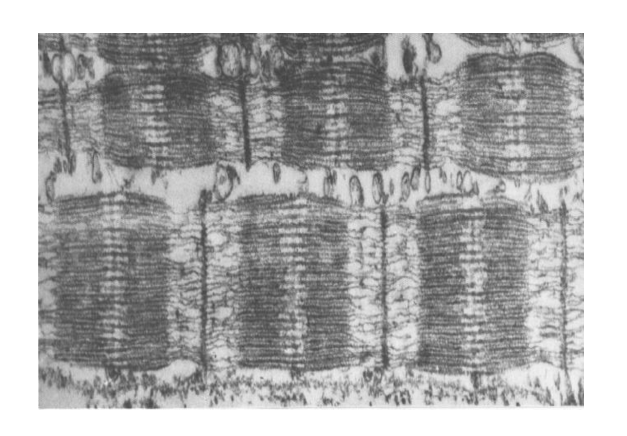
Il présentent une épaisseur de 10 à15 nm

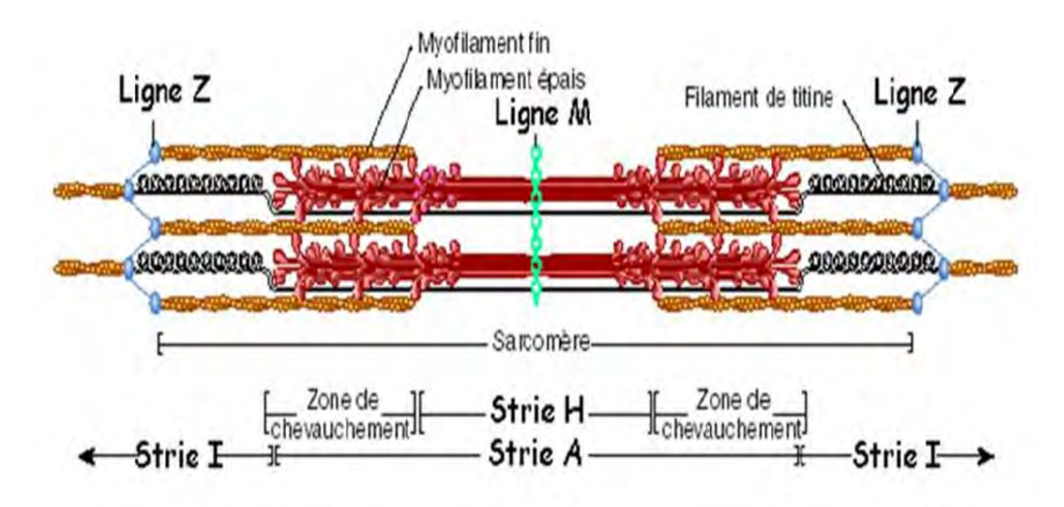
Architecture moléculaire

Ils sont formés par l'assemblage de plusieurs (200 à 300) molécules de myosine II phosphorylées



Filament épais de la myosine II

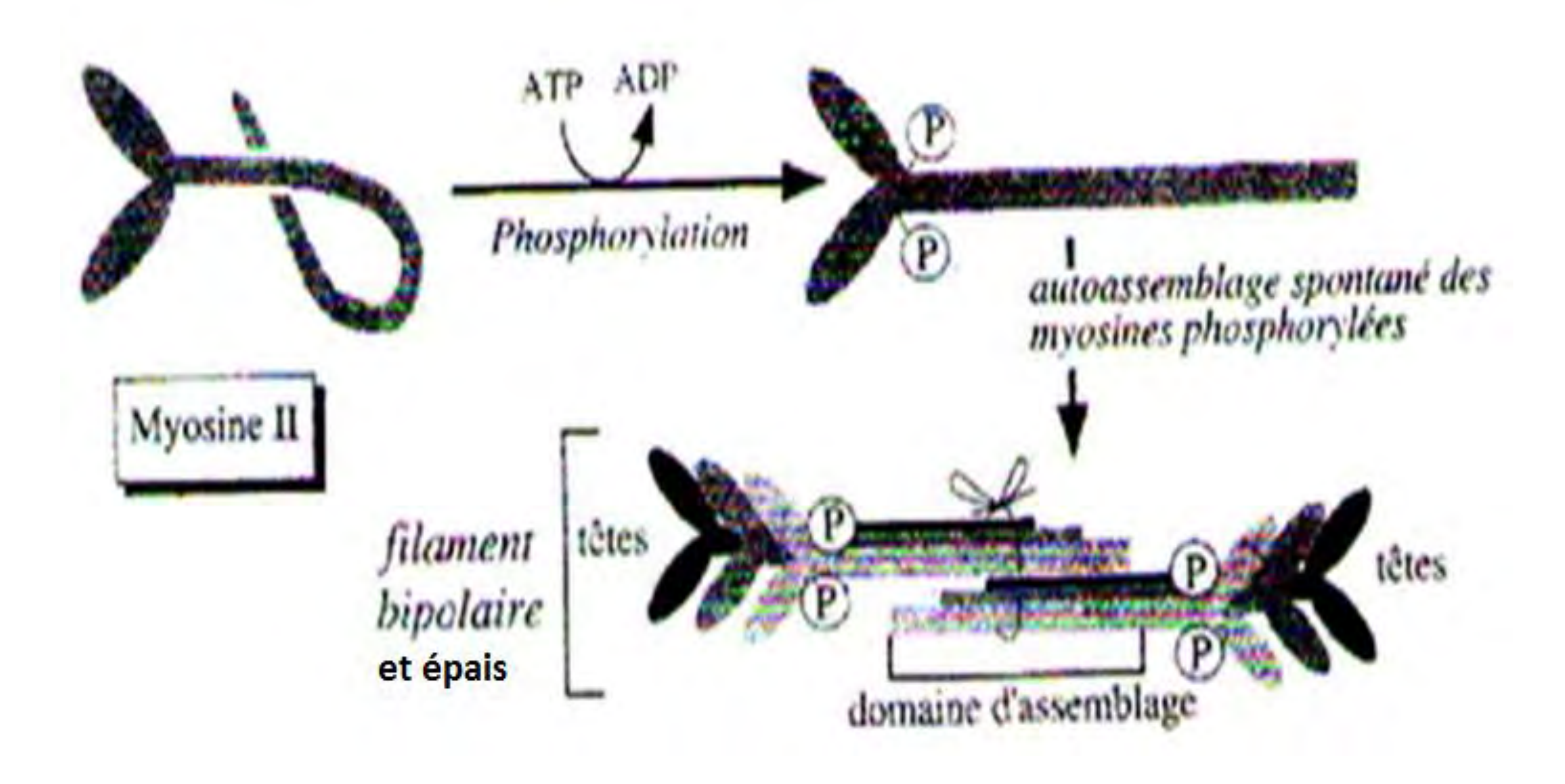




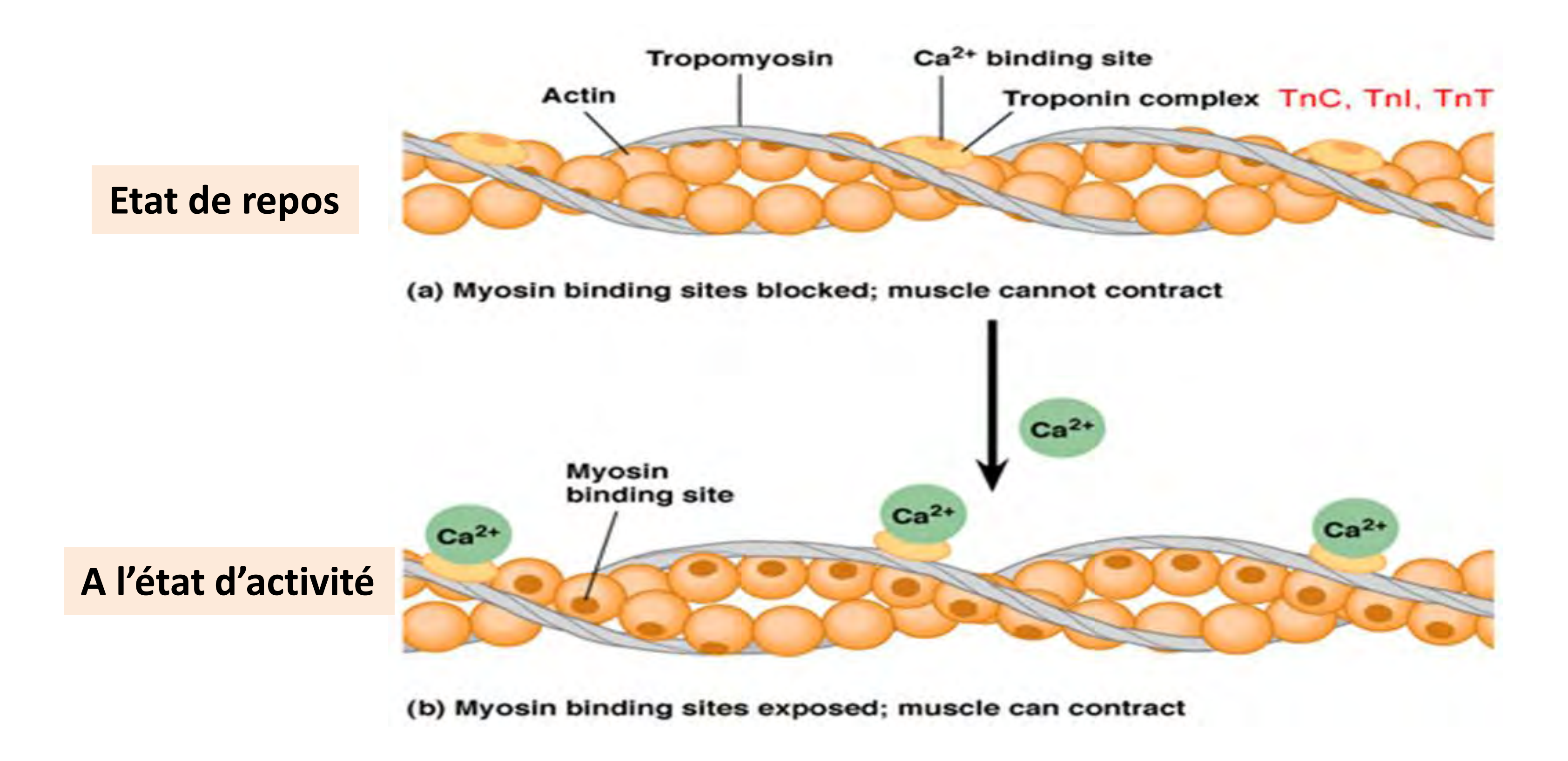
Filament épais = *myosine*
Filament mince = *actine*

Sur coupes minces, les MFF d'actine et Filaments épais de myosine forment une succession d'unités contractiles : les sarcomères

Formation du filament épais de myosine



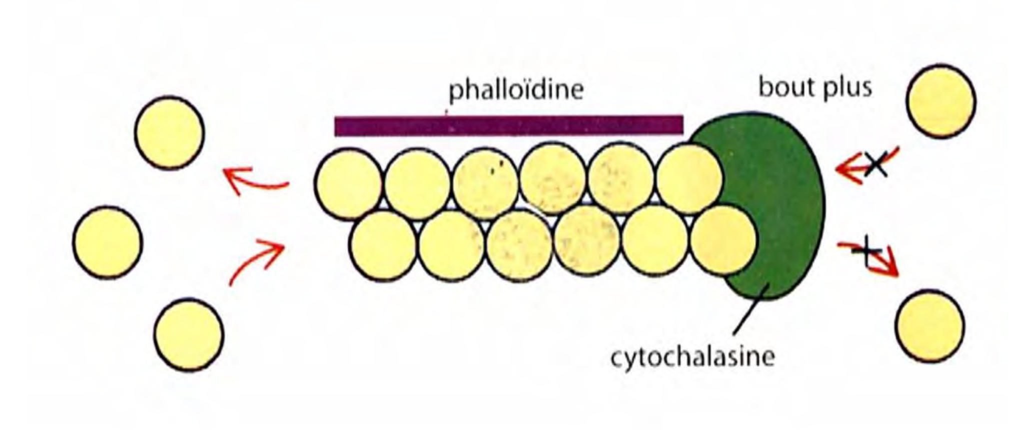
La tropomyosine occupe les sillons de l'hélice d'actine et masque les sites d'interaction avec la myosine II



La troponine masque les sites d'interactions actine – myosine et empêche la contraction en absence de Ca++

Sensibilité des MF d'actine aux drogues

Effet de la cytochalasine et de la phalloïdine sur les MF d'actine (Schéma 10, P 59)



Cytochalasine (extrait d'un champignon microscopique

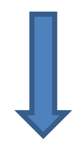
Des molécules exogènes extraites des plantes perturbent la dynamique des MF d'actine :



La phalloïdine extraite de l'amanite phalloïde

Effet de la cytochalasine et de la phalloïdine sur la dynamique des MF

Fixation de cytochalasine
sur extrémité + des MF



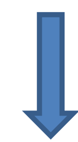
Inhibition de polymérisation

↓

(dépolymérisation)

déstabilisation

Fixation de phalloïdine
sur les côtés des MF



Inhibition de dépolymérisation

Stabilisation